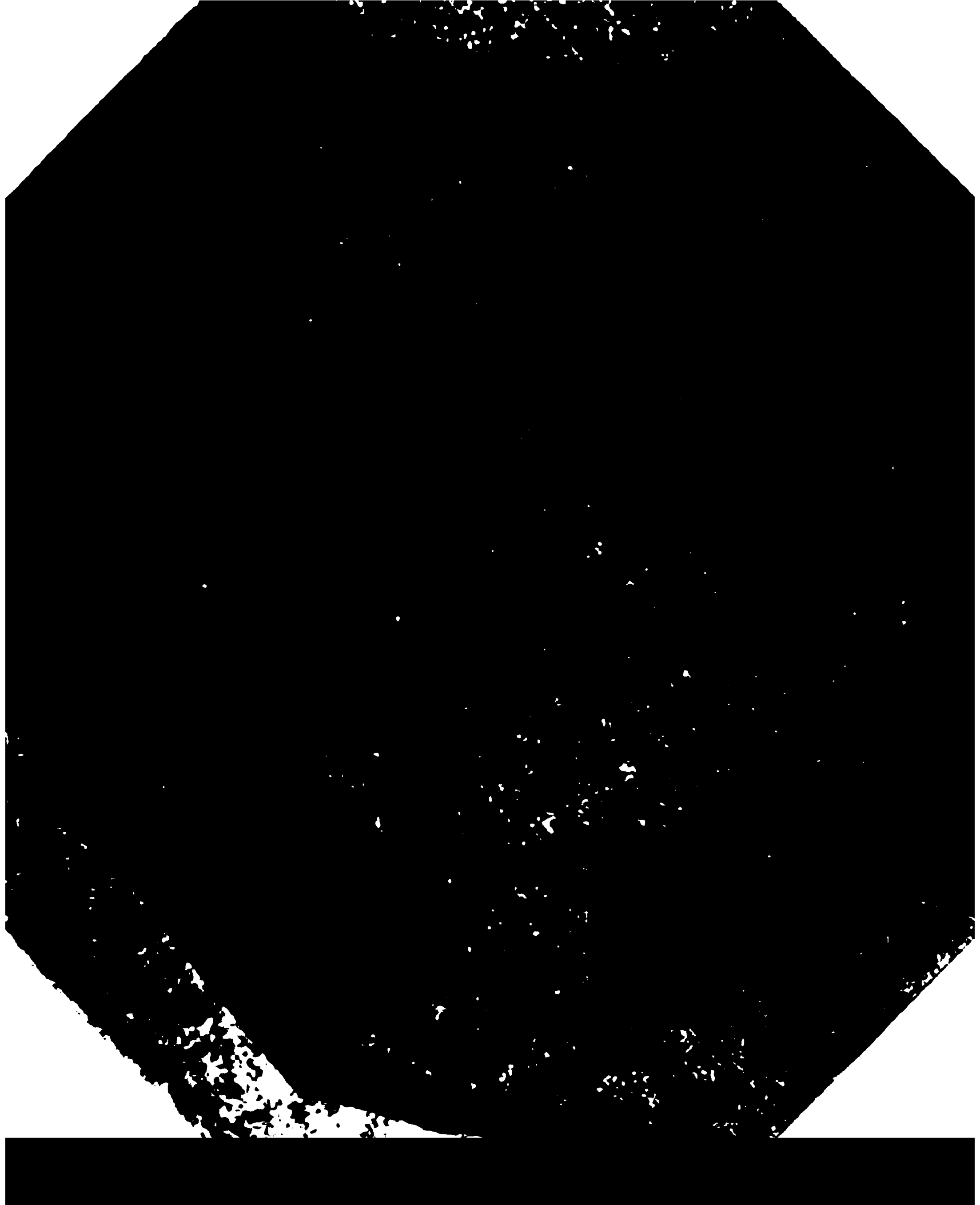


Zentralblatt fuer bakteriologie, parasitenkunde und





CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XLVI. Band.

Originale.



CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer
in Königsberg

und

Staatsrat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

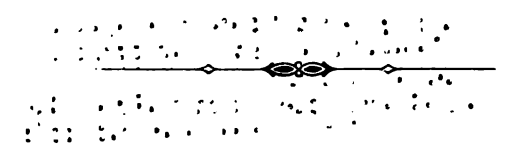
Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XLVI. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 10 Tafeln und 106 Abbildungen im Texte.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1908.

regelmäße Struktur und Lage dieser Anhänge jeden Gedanken an Plasmolyse sofort aus, wie man sehen kann, wenn man die von Bütschli und Zettnow gegebenen Abbildungen vergleicht.

Hölling kritisiert weiter meine Beschreibung der Teilung von S. giganteum. Er sagt, er habe niemals dergleichen Bilder beobachtet, vielmehr nur jene, welche auch Ellis beschrieben hat. Diese Bemerkung ist mir nicht ganz klar. Ich habe in meiner Arbeit gerade auf die Uebereinstimmung meiner und Ellis' Angaben hingewiesen, auch Höllings Angabe ist damit im Einklang, nur wurde der Isthmus zwischen den beiden Tochterzellen bei meinen Beobachtungen etwas weiter ausgezogen, was aber kein prinzipieller Unterschied ist. Ich bleibe also bei meiner Behauptung, daß die Querteilung der Spirochäten und des Sp. giganteum übereinstimmend verläuft.

Die von mir beschriebenen kugeligen Anschwellungen von Sp. giganteum, welche ich als Degenerationsprodukte deutete, werden von Hölling für wichtige Entwickelungsstadien gehalten, welche sich wohl in älteren, nicht aber in degenerierten Kulturen fanden. Dennoch kamen sie in meinen Kulturen vor, welche von Hölling zuvor als degeneriert angesprochen wurden! Ich habe dergleichen Kugeln für Degenerationsprodukte erklärt, 1) weil ich sie in alternden, schwer überimpfbaren Kulturen fand; 2) weil sie oft platzten, so daß ganze Spirillenklumpen mit ihrem Inhalt zusammengekittet wurden; 3) weil sie große Uebereinstimmung zeigen mit Involutionsformen anderer Bakterien (namentlich einiger Essigbakterien) und mit den Fischerschen Plasmoptysekugeln; 4) weil man die Entstehung künstlich hervorrufen kann durch Züchtung bei 40—42°, analog den Hansenschen Versuchen; 5) weil niemals Keimungsvorgänge beobachtet werden bei Uebertragung auf frische Nährböden. Ihre Homologie mit den Pseudocysten von S. balbianii schließe ich aus dem gleichen Bau und der Entstehungsweise beider Gebilde. Ich gehe darauf hier nicht näher ein, weil man das alles aus meiner Arbeit ersehen kann.

Der letzte Einwand Höllings gegen meine Auffassung ist der, daß ich keine plausiblen Gründe für die Querteilung der Sp. balbianii angeführt habe. Dieses ist unrichtig, denn ich habe diese Querteilung in allen Stadien verfolgen können und diese auch abgebildet. Uebrigens sei noch darauf hingewiesen, daß auch Borrel und Fantham neuerdings eine Querteilung bei S. balbianii beschrieben haben.

Fasse ich diese Erwiderung auf die Kritik Höllings kurz zusammen, so komme ich zu dem Schlusse: Seine Behauptung, die Chromatinspirale von S. giganteum sei als Produkt einer Degeneration oder Palmolyse aufzufassen, ist als absolut unrichtig unbedingt zurückzuweisen. Er hat keine Beweise erbracht, daß die von mir beschriebenen Plasmakugeln des S. giganteum keine Degenerationsformen vorstellen, und endlich ist seine Behauptung, ich habe ohne plausible Gründe die Querteilung des S. balbianii angegeben, entschieden unrichtig.

Nachtrag bei der Korrektur.

Seit der Einreichung des Manuskriptes habe ich S. giganteum aufs neue untersucht und dabei nur Kulturen von 24—48 Stunden auf Zettnowschem Spirillenagar verwendet. Zur Fixierung benutzte ich

außer Formol Osmiumsäuredämpfe, Joddämpfe, Hermannsche Flüssigkeit, Alkohol; zur Färbung außer Heidenhainschem Hämatoxylin Methylenblau (1 + 10), Giemsa-Lösung, Delafieldsches Hämatoxylin immer mit demselben Resultat. Das Spiralband trat immer deutlich hervor.

Nachdruck verboten.

Zur Morphologie des Milzbrandbacillus.

Von Dr. med. **Albert Hamm,**
Assistenten an der Universitäts-Frauenklinik zu Straßburg.

Hinterberger hat im 2. Heft des XLV. Bandes dieser Zeitschrift „Bemerkungen zu der Frage“ veröffentlicht, „ob Bacillus anthracis Geißeln bildet und Hüllen hat“, offenbar in der Absicht, damit seine frühere Hypothese [1]) zurückzunehmen, wonach die von ihm in jungen Agarkulturen gesehenen Geißeln, „die Bewegungsorgane der Mikroorganismen“, sich mit dem Altern der Kultur zu Fäden und Fadennetzen umwandeln, die ganz an die Mycele der Pilze erinnern.

Ich [2]) habe früher gezeigt, warum ich die von Hinterberger mit der van Ermengemschen Methode beim Milzbrandbacillus zur Darstellung gebrachten „Geißeln“ für Kunstprodukte halte, und nun gibt Hinterberger selbst zu, daß er „bisher immer nur Andeutungen von geißelartigen Fäden, jedoch noch nie sichere Geißeln gesehen“ hat; hingegen weist er die ihm „wiederholt bekannt gewordene Ansicht“, daß die von ihm als „Mycele“ bezeichneten Fadennetze nichts anderes als ausgezogene Schleimfäden seien, vorläufig immer noch zurück. Er fügt allerdings gleich hinzu, nicht in Abrede stellen zu wollen, daß weitere Untersuchungen ihn möglicherweise ganz gut zu einer anderen Ansicht bringen könnten.

Leider geht aus den Bemerkungen Hinterbergers nicht hervor, ob er bei seinen „lächerlich lange Zeit auf alle mögliche Weise“ angestellten Versuchen, über die vorliegende Frage sich Klarheit zu verschaffen, auch die Weidenreichsche Fixationsmethode angewandt hat. Jedenfalls möchte ich glauben, daß, wenn er es getan hätte, ihm der große Unterschied zwischen Milzbrandpräparaten, die mit Osmiumdämpfen fixiert sind, gegenüber solchen, die der Hitzefixation ausgesetzt waren, derartig aufgefallen wäre, daß er dies füglich nicht hätte unerwähnt lassen können.

Sehr richtig weist Hinterberger neuerdings selbst darauf hin, daß die von ihm erhaltenen Bilder möglicherweise auf „Lösungs- oder Quellungserscheinungen“ beruhen, nur möchte ich entschieden der Auffassung entgegentreten, daß es sich um eine „Quellung oder Lösung der Kapselmembran“ handle; denn ich glaube seinerzeit nachgewiesen zu haben, daß es eine die „Schleimhülle“ nach außen hin abgrenzende „Kapselmembran“ überhaupt nicht gibt.

1) Hinterberger, Einiges zur Morphologie des Milzbrandbacillus (Kapseln, Hüllen, eigentümliche Fäden). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901. p. 417—424.)

2) Hamm, A., Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. p. 287—303.)

In der ersten Mitteilung Hinterbergers lesen wir, daß die „teils frei liegenden, teils eng an die Bacillen sich anschließenden, sehr oft durch verbindende Fäden zusammenhängenden, teils sich verästelnden, teils Netze bildenden Fäden, die gewiß in morphologischer und physiologischer Hinsicht etwas ganz anderes sind als Geißeln", etwas dem Milzbrandbacillus Eigentümliches darstellen. Aus seinen neuen Bemerkungen ist zu ersehen, daß er selbst eine Verwechslung der „Geißeln" mit den „Hüllen" sehr leicht für möglich hält.

Wenn ich an der Hand dieser Ausführungen die Photogramme Hinterbergers mit den von mir erhaltenen Bildern vergleiche, so drängt sich mir der Gedanke auf, gerade in Hinterbergers Untersuchungen eine weitere Stütze zu finden für meine Anschauung, daß nämlich die Membran des Milzbrandbacillus einzig und allein von einer, allerdings sehr fragilen, gallertigen Schleimhülle umgeben ist, und daß die als „Geißeln", „Hüllen", „Kapselmembran" etc. beschriebenen Zellbestandteile weiter nichts als artifizielle Umwandlungsprodukte dieser Bakterienkapsel darstellen.

Für die ausführlichere Begründung dieser Behauptung möchte ich mir erlauben, auf meine frühere Arbeit, speziell das p. 300 Gesagte zu verweisen, in der Hoffnung, daß die dort vorgeschlagene Untersuchungsmethodik und die damit erhaltenen Beobachtungsresultate geeignet sein mögen, die nach Hinterberger anscheinend noch dunkle Frage der Morphologie des Milzbrandbacillus ihrer Klärung und Lösung entgegenzuführen.

Experimentelle Leukämie bei Hühnern[1]).

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der kgl. Hochschule für Veterinärwesen und Landwirtschaft zu Kopenhagen.]

Vorläufige Mitteilung.

Von

V. Ellermann, und **O. Bang,**
Privatdozent, 1. Assistenten an dem Kgl. Frederiks Hospital, Abt. A.
Tierarzt, Assistenten am Laboratorium.

Bekanntlich herrscht über das Wesen der Leukämie große Uneinigkeit, indem die Krankeit von Einigen als Infektion, von Anderen als bösartige Neubildung aufgefaßt wird. Auch andere Auffassungen, die die Frage der Aetiologie offen lassen, sind aufgestellt worden. Könnte man bei Tieren die Krankheit experimentell hervorrufen, so wäre es vielleicht möglich, die Krankheitsursache zu erforschen. Derartige Versuche sind auch gemacht worden, soweit uns bekannt, jedoch ohne Erfolg. Da es uns nun gelungen ist, in 2 Generationen die Krankheit überzuführen, möchten wir in aller Kürze die Hauptresultate unserer Versuche mitteilen, indem wir hoffen, bald die ausführliche Beschreibung geben zu können.

---

1) Nach einem Vortrag in der biologischen Gesellschaft in Kopenhagen am 14. November 1907.

Als Versuchstiere wurden Hühner angewandt. Dieselben sind billig und für Versuche gut geeignet. Bei diesen Tieren kommt zuweilen eine Krankheit vor, die die größte Aehnlichkeit mit der menschlichen Leukämie darbietet. Die Krankheit kommt oft in Form kleiner Epidemieen vor, ist jedoch im ganzen nicht häufig. Eine Beschreibung der Krankheit liegt bis jetzt nicht vor. Zwar hatte Moore ein Krankheitsbild beschrieben, dem er den Namen „infektiöse Leukämie der Hühner“ gibt. Seine Deutung ist aber von anderer Seite bestritten worden, und es geht aus der Beschreibung und den Abbildungen deutlich hervor, daß es sich um eine akute Infektionskrankheit handelt, welche von Bakterien hervorgerufen wird und von Leukocytose begleitet ist. Die wirkliche Leukämie hat im Gegensatz hierzu einen subakuten oder chronischen Verlauf. Die Vermehrung der Leukocyten kann sehr beträchtlich werden, derart, daß das Verhältnis $\frac{L}{E} = \frac{1}{2}$ wird. Es handelt sich nicht um eine einfache Vermehrung der Leukocyten. Die großen mononukleären Formen beherrschen das Bild, während die polynukleären abnehmen. Ferner treten pathologische Formen auf, große mononukleäre, granulierte Leukocyten, die als Myelocyten aufgefaßt werden müssen. Außer der Blutveränderung sind leukämische Organveränderungen vorhanden: Anschwellung der Milz und Leber, graurote Verfärbung des Knochenmarks. In der Leber treten zahlreiche Infiltrate auf, welche hauptsächlich von granulierten Zellen gebildet werden, die denjenigen des Knochenmarks gleichen. Die Kapillaren des Knochenmarks und der Leber sind von Leukocyten vollgepfropft.

Nach intravenöser Injektion von Organemulsion eines solchen Falles bei gesunden Hühnern entstand bei einem Huhn nach 3 Monaten eine typische Leukämie, und bei weiterer Ueberführung bekamen wir bei 2 Tieren eine wohlausgebildete Leukämie mit den charakteristischen Organveränderungen. Bei einigen Tieren trat der Tod ein, bevor das Blut leukämisch geworden war, die Organe boten aber in diesen Fällen genau dieselben Veränderungen dar, wie in den Fällen mit Leukämie. Bakterien konnten weder direkt noch durch Kultur nachgewiesen werden.

Wir sind geneigt, anzunehmen, daß es sich um eine Infektionskrankheit handelt. Aus den Versuchen geht nun nicht hervor, ob die Krankheit durch Ueberführung von Zellen oder von Parasiten hervorgerufen wird. Versuche, die diese Frage zu entscheiden bezwecken, sind angefangen worden.

Studien über Hetero- und Isantagonismus, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse bei infektiösen Erkrankungen der Harnwege.

[Arbeit aus dem „Statens Seruminstitut" in Kopenhagen. Direktor: Dr. Th. Madsen.]

Von Dr. **R. Faltin** aus Helsingfors.

Mit 1 Abbildung.

Einleitung.

Die vorliegenden Studien sind durch einige Beobachtungen veranlaßt worden, welche ich bei bakteriologischen Untersuchungen pathologischer Harne gemacht hatte. Ich fand nämlich, daß, wenn eine infektiöse Erkrankung der Harnwege zu verschiedenen Zeiten fortlaufend untersucht wurde, die Bakterienflora sich sehr oft verändert hatte. Erstreckte sich die Beobachtungsdauer über eine längere Zeit, so konnte die Flora sogar mehrmals ihre Gestalt verändert haben. Diese Variationen schienen nach gewissen Gesetzen zu erfolgen. Eine primäre Monoinfektion, namentlich eine Staphylokokkeninfektion, blieb selten bestehen, sondern wurde meistens in eine Polyinfektion übergeführt. Die letzte Flora einer großen Anzahl Fälle war eine Symbiose von Bacterium coli mit einem ovalen Streptokokken. Diese Flora hatten auch auffallend oft zum ersten Male untersuchte, alte, schon lange behandelte Fälle. Ueberhaupt fand sich Bacterium coli viel öfter in alten als in frisch infizierten Fällen. Selten kam als Spätflora eine Reinkultur von Bacterium coli vor. In 3 Fällen wurde dagegen als letzter Mikroorganismus Bacillus pyocyaneus gefunden.

Diese Beobachtungen stimmen, wenigstens was das Bacterium coli betrifft, mit den Untersuchungen von Clarke und Maxwell, Baisch, Bosselini, Forcart und Suter überein.

Eine befriedigende Erklärung dieser auffallenden Erscheinungen konnte ich nicht geben, sondern nur die Vermutung aussprechen, daß wahrscheinlich einerseits die angewandte Therapie und andererseits ein eventueller Antagonismus zwischen den Bakterien zu dem Resultat beigetragen hatte. Was die erstere Vermutung betrifft, so erhielt sie eine Stütze in der von mir gemachten Beobachtung, daß verschiedene Bakterien eine recht verschiedene Empfindlichkeit sowohl gegenüber den internen Urindesinfizientien — Salol und Urotropin — als gegenüber jeder Therapie überhaupt zeigten.

Rovsing hat bekanntlich die Hypothese aufgestellt, daß der Coli-Bacillus für die Harnwege meistens ziemlich unschuldig sei, aber andererseits gegen die meisten anderen, namentlich die harnstoffzersetzenden Harnbakterien, einen ausgesprochenen Antagonismus zeigt, so daß er diese, welche die eigentlichen Cystitiserreger seien, aus den Harnwegen verdrängen oder jedenfalls so überwuchern könne, daß das Auffinden der anderen Bakterien mit unseren gewöhnlichen bakteriologischen Methoden sehr erschwert resp. unmöglich werde. Durch einige Reagenzglasversuche will er eine Stütze für diese Hypothese gefunden haben.

Diese Lehre wurde namentlich von der Guyonschen Schule bekämpft. Experimentell wurde die Frage von Melchior, Krogius

und Wallgren und Forcart angegriffen. Ich will mich nicht auf eine nähere Kritik weder dieser noch der Rovsingschen Experimente einlassen, besonders da sowohl Melchior als Krogius und Wallgren ausdrücklich betonen, daß ihre Reagenzglasversuche, die nur zur Nachprüfung der Angaben von Rovsing unternommen wurden, keineswegs einen Schluß betreffs der gegenseitigen Einwirkung der Bakterien in einer kranken Harnblase zulassen. So viel sei nur gesagt, daß die Autoren trotz kleiner Verschiedenheiten im großen und ganzen so vorgegangen sind, daß sie zwei oder mehrere Bakterienarten zusammen entweder in Harn oder in Bouillon (Rovsing) züchteten und dann die Kulturen so lange beobachteten, bis der eine oder beide Mikroorganismen tot waren. Sie haben dann im allgemeinen den Schluß gezogen, daß die länger lebende oder die zuletzt in größerer Anzahl vorhandene Bakterienart eine antagonistische Wirkung auf die früher gestorbene Art ausgeübt hatte. Worauf dieser Ausgang der Experimente zurückzuführen sei, was das eigentliche Wesen dieses mystischen Begriffes des Antagonismus sei, das haben die genannten Autoren nicht näher zu klären versucht. Eine Stütze für die Rovsingsche Hypothese hat keiner der genannten Autoren in seinen Experimenten finden können.

Es existiert bereits eine große Literatur über Antagonismus. Da dieselbe in Kolle und Wassermanns Handbuch von Gotschlich zusammengestellt ist, kann ich sie hier übergehen.

In jüngster Zeit haben einige Autoren (Lode, Krencker, Eijkman, Conradi und Kurpjuweit, Passini, Manteuffel, Rolly) tiefer in das Wesen des Antagonismus einzudringen versucht. Namentlich haben sie die damit nahe zusammenhängende Frage von der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen in einer alternden Kultur in Angriff genommen.

Eijkmans Beobachtungen hatten ihn zu der Annahme geführt, daß die Bakterien in Agar und Gelatine, aber nicht in Bouillon, thermolabile wachstumshemmende Stoffe bilden, die diffusibel sind, aber Porzellanfilter nicht oder in geringem Maße zu passieren vermögen.

An diese Beobachtungen anknüpfend, haben dann Conradi und Kurpjuweit über Versuche berichtet, durch welche sie gezeigt haben wollen, daß auch in Bouillonkulturen Hemmungsstoffe von hoher Wirksamkeit, nicht nur gegen die arteigenen, sondern auch gegen andere Mikroorganismen, gebildet werden. Diese von ihnen als Autotoxine bezeichneten Stoffe sollen weder hitzebeständig noch durch Tonkerzen filtrierbar sein. Nur mittelst Dialyse durch Schilfmembranen gelang es ihnen, eine Trennung der Hemmungsstoffe von den Bakterienleibern zu bewirken.

Gegen diese Versuche sind sowohl von Eijkman selbst als von Passini, Manteuffel und Rolly schwerwiegende Einwände erhoben worden. Während Eijkman an seinen Behauptungen festhält und sie durch neue Experimente gestützt hat, halten die anderen Autoren die Existenz von entwickelungshemmenden Stoffen in Bakterienkulturen überhaupt für bis jetzt nicht bewiesen. Manteuffel meint, daß das Vorkommen derselben durch die infolge des Wachstums hervorgerufene Verarmung des Nährbodens an notwendigen assimilierbaren Stoffen vorgetäuscht wird.

Außer in künstlichen Nährböden ist ein Antagonismus zwischen Bakterien auch sowohl in der Natur, z. B. in Gewässern (Duclaux, Conradi) als angeblich auch im tierischen Organismus beobachtet

worden. Mehrere Autoren haben die Einwirkung experimentell untersucht, welche eine Bakterienart resp. deren Produkte auf eine andere im Organismus befindliche ausübt, und sind dabei für eine Reihe von Bakterienarten zu dem Resultate gekommen, daß sie für den Organismus günstig sind, in dem die eine auf die andere durch Antagonismus entwickelungshemmend wirkt[1]). Da aber die Resistenz eines Tieres gegen eine Infektion durch Injektion von den verschiedenartigsten Stoffen (Harn, Sputum, Bouillon) erhöht werden kann, sind diese Versuche keineswegs überzeugend.

Wassermann meint, daß für den Menschen bisher überhaupt nicht eine einzige exakte Beobachtung vorliegt, daß eine Bakterienart auf eine andere eine antagonistisch hemmende und für den Organismus nützliche Wirkung ausgeübt hätte. Dieser Ausspruch scheint mir doch etwas zu kategorisch zu sein, denn so hat z. B. Fibiger mehrmals beobachtet, wie Diphtheriebacillen aus dem Schlunde verschwanden, wenn die bacillentragenden Individuen Kokken- oder Streptokokkenangina bekamen. Aehnliche Beobachtungen sind auch von Hellström gemacht worden.

Immerhin ist dies Arbeitsgebiet von den Autoren fast völlig verlassen worden, bis Emmerich und Löw durch ihre Veröffentlichungen wieder vorübergehend etwas mehr Leben in dasselbe brachten.

Nach dieser kurzen Literaturdurchsicht muß man zugeben, daß eine praktische Verwertung eines eventuellen Antagonismus zwischen Harnbakterien nicht sehr aussichtsvoll erscheint. Rovsing hat den Gedanken ausgesprochen, daß man vielleicht durch eine absichtliche Infektion mit Bacterium coli eine andere Infektion heilen oder günstig beeinflussen könnte. Ich muß auch gestehen, daß mir die praktische Ausnützung meiner oben erwähnten Beobachtungen anfangs als ein erstrebenswertes und vielleicht nicht unerreichbares Ziel vorgeschwebt hat. Bestände in der Tat ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Verschwinden der einen Flora und dem Auftreten einer neuen, so wäre es wahrhaftig eine lohnende Aufgabe, die einzelnen hier wirksamen Faktoren und waltenden Gesetze zu erforschen, denn mit der Kenntnis derselben wäre es uns dann vielleicht möglich, eine pathogene Bakterienflora in eine nicht pathogene Flora umzugestalten. Diese könnte möglicherweise schließlich durch wenig eingreifende, z. B. interne Mittel, oder durch die natürlichen Schutzvorrichtungen des Organismus wieder aus den Harnwegen vertrieben werden.

Aehnliche Gedanken sind schon von anderen Autoren ausgesprochen und sogar praktisch, wenn auch auf anderen Gebieten, durchgeführt worden. Ich sehe hier völlig ab von den schon erwähnten Tierversuchen, wo man eine allgemeine Infektionskrankheit durch künstliche Infektion, d. h. Injektion mit einer anderen Art, heilen wollte.

De Jäger, Escherich, Brudzinski, Tissier haben mit mehr oder weniger Erfolg bei infektiösen Formen des Darmkatarrhs bei Säuglingen die pathogenen Bakterien durch Verabreichung der Kulturen eines für den Säuglingsdarm nicht pathogenen Bacillus (Bacillus lactis aërogenes) zu vernichten und dadurch den pathologischen Prozeß zum Stillstand zu bringen versucht. Die Beeinflussung der Darmflora durch die von Metschnikoff u. A. empfohlene Sauermilch, Yoghurt, soll (Löbel) ebenfalls auf die Wirksamkeit des in derselben enthaltenen Bacillus lactis aërogenes zurückzuführen sein.

1) In Kolle und Wassermans Handbuch. Bd. I. p. 311—313, findet sich eine Menge Beispiele angeführt.



Die günstigen Versuche Ladaus u. A., Scheidenkatarrhe durch Hefe zu heilen, basieren auf derselben Idee.

Wenn es auch bei näherer Ueberlegung nicht sehr wahrscheinlich ist, daß ein Bakterium, namentlich ein nicht pathogenes, ein anderes in die Gewebe hinein gewissermaßen verfolgen und daraus vertreiben könnte, so muß man doch zugeben, daß die Verhältnisse im Harn wesentlich anders liegen. Es ist nicht undenkbar, daß die Chancen hier für den eigentlichen Krankheitserreger viel schlechter liegen können, als für die später in die Blase eingeführte Bakterienart. Man denke sich z. B. eine gonorrhoische Blasenentzündung mit Sekundärinfektion mit irgendeiner im Harn gut wachsender Species. Diese könnte vielleicht auf jene entwickelungshemmend einwirken und also wenigstens dasselbe leisten, wie ein internes sogenanntes Harndesinficiens.

Noch aussichtsvoller wäre vielleicht ein Versuch bei den prognostisch so ungünstigen, zwar anfangs aseptischen Harnretentionen bei Krankheiten oder Läsionen des Rückenmarks prophylaktisch eine gegen die gewöhnlichen Harnbakterien ausgesprochen antagonistisch wirkende, nicht pathogene Bakterienart in die Harnwege einzuführen. Dann würden sich die beiden Bakterien unter für die pathogene Art in numerischer Hinsicht besonders ungünstigen Bedingungen gegenüberstehen. Diese kann ja erst vom Harn aus die Gewebe angreifen, aber ehe sie dies zustande bringt, ist sie vielleicht schon von jener vernichtet.

Etwas gewissermaßen Aehnliches findet sich ja übrigens schon z. B. in der Scheide vor, wo in den gewöhnlichen Vaginalbakterien der Hauptfaktor der sogenannten Selbstreinigung der Scheide zu suchen ist (Menge, Cahanesco).

Jeder, der sich mit der Chirurgie der Harnwege abgegeben hat, weiß, daß die am schwierigsten aus den Harnwegen ausrottbare Bakterie der Coli-Bacillus ist. Gegen diesen müßten also in erster Linie unsere Bemühungen gerichtet werden. Da ich nun in einigen Fällen beobachtet hatte, daß das Verschwinden des Coli-Bacillus aus den Harnwegen mit dem Auftreten einer anderen Flora koinzidierte, erschien mir die Annahme nicht ganz unberechtigt, daß die neue Flora eventuell zu dem Resultat hätte beitragen können und daß hier vielleicht doch ein Ausgangspunkt zur praktischen Verwertung der gegenseitigen Einwirkung zweier Bakterien aufeinander vorhanden wäre.

Jedenfalls scheint mir die Frage von dem eventuellen Antagonismus zwischen den gewöhnlichen Harnbakterien doch so viel theoretisches Interesse zu bieten und außerdem keineswegs so geklärt zu sein, daß nicht neue Untersuchungen willkommen wären.

Eigene Untersuchungen.

Fragestellung. Fürs erste vollkommen von der sicherlich nicht geringen Rolle absehend, welche die lebenden Gewebe und die Beschaffenheit des Harns im Kampfe gegen die Infektionserreger spielen, stellte ich mir folgende Aufgaben, insoweit sie durch Reagenzglasversuche einer Lösung zugänglich waren. Existiert ein Antagonismus zwischen den gewöhnlichen Harnbakterien? Wenn ja, in welcher Richtung macht derselbe sich geltend und worauf ist derselbe zurückzuführen? Ohne diese Aufklärung wäre an einen Versuch, den Antagonismus praktisch zu verwerten, gar nicht zu denken.

Versuchsanordnung, mit besonderer Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse. Um an die Lösung der Fragen

näher heranzutreten, wollte ich nach dem Vorgehen anderer Forscher auf diesem Gebiete zunächst die gegenseitige Einwirkung zweier im Harn wachsender Bakterien aufeinander untersuchen. Um einen möglichst richtigen Begriff von dieser Einwirkung zu erhalten, war es meine Absicht, womöglich quantitativ zu arbeiten, d. h. von bekannten Bakterienquantitäten auszugehen und dann die Wachstumskurven zu verfolgen. Diese Kurven erhält man bekanntlich, wenn man die Zeiten als Abscissen, die Anzahl der lebenden Individuen als Ordinaten aufträgt.

Versuchsschema. Nach einigen Vorversuchen kam ich zu folgendem Versuchsschema:

I. Die beiden zu untersuchenden Bakterien werden je in eine 200 ccm Harn enthaltende Flasche geimpft und die Wachstumskurven bestimmt.

II. Dasselbe geschieht bei gleichzeitiger Kultivierung der beiden Arten in einer und derselben Flasche mit Harn. Dabei werden die Anfangsdosen so variiert, daß, wenn es sich z. B. um Bacterium coli und Staphylococcus handelt 1) Coli > Staph., d. h. der Coli-Bacillus eine numerische Ueberlegenheit besitzt; 2) Coli = Staph. und 3) Staph. > Coli.

Im Vorbeigehen sei erwähnt, daß anfangs sowohl Bakterienaufschwemmungen von 1-tägigen Agarkulturen als auch einfach ein gewisses Quantum eines ca. 1-tägigen infizierten Harnes angewandt wurden, aber später, da kein Unterschied sich herausstellte, aus praktischen Gründen nur infizierte Harne oder deren Verdünnungen verwendet wurden.

III. Mit denselben drei Kombinationen und Dosen wie in II werden die Versuche wiederholt, aber in gleich näher zu beschreibenden künstlichen Harnblasen, welche die Verhältnisse in dem Organismus wenigstens mit Hinsicht auf die kontinuierliche Zuströmung von neuem Urin und die zeitweise stattfindende Entleerung desselben nachahmen sollten.

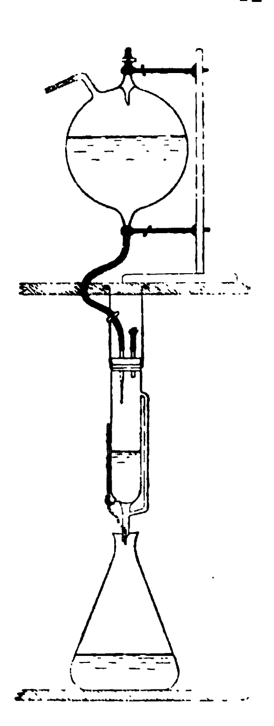
Wie ersichtlich, hatten die beiden Bakterien je zwei Anfangsdosen, eine enorm große und eine kleine. Diese letztere wurde meistens als Anfangsdosis auch für die Versuche in I benutzt.

Bestand nun in der Tat ein Antagonismus zwischen den Bakterien, so mußte derselbe in den Wachstumskurven zum Ausdruck kommen, indem sich andere Kurven in II als in I herausstellen müßten. Welche Rolle dabei das gegenseitige numerische Verhältnis spielte, hätte ebenfalls Gelegenheit sich kundzugeben.

Diese Versuchsanordnung scheint mir den entsprechenden Verhältnissen in dem lebenden Organismus, wo einzelne mittels des Katheters in eine schon infizierte und also massenhaft Bakterien enthaltende Blase eingeführt werden, wenigstens etwas mehr Rechnung zu tragen, als wenn man einfach Reagenzgläschen mit Harn oder Bouillon mit unbekannten Bakterienmengen infiziert und dann beobachtet, wie die Sachen sich entwickeln.

Dieser scheinbar so einfachen Versuchsanordnung stellten sich nun bei der praktischen Durchführung manche Schwierigkeiten entgegen, von denen noch unten des näheren die Rede sein wird, so daß einzelne Versuche einer größeren Serie nicht immer einwandfrei verliefen und wiederholt werden mußten, um das Fehlende zu ergänzen.

Künstliche Harnblasen. Hierzu benutzte ich den Soxhletschen Aetherextraktionsapparat, welcher sich automatisch entleert, sobald die zuströmende Flüssigkeit zu einem gewissen Niveau steigt (s. Fig.). Die vier angewandten Apparate hatten eine Kapazität von je 60 ccm und waren durch perforierte Gummipfropfen oben verschlossen.



Der Harn wurde von einem höher gelegenen Glasballon durch einen Schlauch und eine fein ausgezogene Glasspitze zugeleitet. Wenn man den Spitzen möglichst dasselbe Lumen gab und die Behälter je nach Bedarf entweder senkte oder erhöhte, konnte man mehrere Blasen auf dieselbe „Miktionsgeschwindigkeit" einstellen. Gewöhnlich wurden sie so eingestellt, daß sie sich ca. 10mal während 24 Stunden entleerten. Längere Zeit als eine Woche dauerten die Versuche im allgemeinen nicht. Ausnahmsweise wurden jedoch einige Versuche bis auf ca. 2 Wochen ausgedehnt.

Täglich wurde der Gummipfropfen herausgenommen und mit steriler Pipette eine Probe entnommen. Dabei infizierten sich die künstlichen Blasen recht oft, meistens mit Pyocyaneus oder einem ovalen Streptokokken. Bei den späteren Versuchen wurden deswegen (nach Salomonsen) doppelt durchbohrte Gummipfropfen angewandt. Durch das eine Loch ging das Zuleitungsrohr, durch das andere ein Glasrohr, das mittels eines mit Watte zugestopften Schlauchstückes verschlossen war. Bei der Harnentnahme wurde nur das Schlauchstück entfernt und eine Pasteursche Pipette eingeführt. Zu fremden Infektionen kam es danach sehr selten.

Technik der Bakterienzählung. Zur zahlenmäßigen Bestimmung des Bakteriengehaltes des Harns wurde folgendes Verfahren, das allmählich während des Ganges der Untersuchungen ausgearbeitet wurde, verwandt:

Von dem zu untersuchenden Harn wurde mittels einer genau tarierten Pipette 5 ccm entnommen und in einen Erlenmeyerschen, $1^1/_2$ Liter fassenden Kolben mit 495 ccm 0,9-proz. Kochsalzlösung eingegossen. Die folgenden Verdünnungen wurden ebenfalls mit 5 ccm oder 10 ccm Pipetten in der Weise hergestellt, daß sie stets Multipla von 10 entsprachen. Je nach dem vermuteten Bakteriengehalt gestaltete sich die Ausführung ein wenig verschieden. Zu den letzten Verdünnungen wurden womöglich 10 ccm Pipetten und Kolben mit 90 ccm Salzwasser, seltener 5 ccm Pipetten und 45 ccm Salzwasser, verwandt. Jedenfalls waren die Sprünge in den letzten Verdünnungen nie größer als 1—10.

Aus den letzten 2 bis 4 Verdünnungen wurden schließlich Petri-Schalen mit je 1 ccm beschickt. Anfangs wurde die Flüssigkeit erst mit dem Nährboden vermischt und dann die Platte gegossen, später aber, nach dem sehr praktischen und empfehlenswerten Vorgehen von Niedner und Hesse, erst die Flüssigkeit in die leere Schale verteilt und dann der Nährboden darüber gegossen. Durch dieses Verfahren wurden die Resultate viel zuverlässiger. Außerdem wurden, wie vergleichende Versuche zeigten, die Zahlenwerte etwas höher.

Theoretisch hätte jede der Platten eine Kontrolle für die Richtigkeit der anderen abgeben sollen, insofern als die Platte von der letzten Verdünnung $^1/_{10}$ der Kolonieenzahl in der vorletzten Verdünnung hätte enthalten sollen.

Im allgemeinen war die Kolonieenzahl in der Platte von der ge-

ringeren Verdünnung etwas zu klein. Die Fehler wurden um so größer, je größer die Kolonieenzahl in der letzten Platte war. Am besten stimmten die Platten miteinander überein, wenn die Kolonieenzahl der Platte von der letzten Verdünnung 10—100 war. Dann enthielt die Platte von der vorhergehenden Verdünnung ziemlich genau, mitunter vollkommen genau, die 10-fache Anzahl. Namentlich am Schluß der Arbeit stimmten die Zahlen recht gut. Als Grund für die Berechnung wurde wo möglich eine Platte mit einer Bakterienzahl von 100—600 gelegt.

Die Zählung der entwickelten Kolonieen geschah mit der Lupe.

Nährböden. Als Nährboden wurde, wenn es sich um die Zählung einer einzigen Bakterienart handelte, nur leicht alkalischer Fleischwasserpeptonagar (1 Proz. Wittes Pepton, 1/2 Proz. NaCl) verwandt. Waren zwei Arten zu zählen, wurden sowohl Gelatine- als Agarplatten angefertigt. Kontrollversuche zeigten, daß die Gelatineplatten im allgemeinen etwas höhere Zahlen gaben als die entsprechenden Agarplatten. Nach 3 Tagen wurden die im Brutschrank gehaltenen Agarplatten gezählt, die bei Zimmertemperatur gehaltenen Gelatineplatten nach ca. 8 Tagen oder früher, wenn sie durch schnell verflüssigende Kolonieen unbrauchbar zu werden drohten.

Fehlerquellen bei der Bestimmung des Bakteriengehaltes des Harns. Durch Kontrollversuche wurde festgestellt, daß das Schütteln der infizierten Harne nicht ohne Einfluß auf das Resultat der Bakterienzählung war, wenn es sich um vor einigen Tagen infizierte Harne handelte. So konnte man z. B. bei einem 2-tägigen Staphylokokkenharn doppelt höhere Zahlenwerte nach dem Schütteln als vor dieser Prozedur erhalten.

Waren die infizierten Harne schon älter, so war es dagegen gleichgültig, ob man die oberste Schicht oder die Bodenschicht untersuchte. Es wurde deshalb so vorgegangen, daß nur bei Gegenwart eines Oberflächenhäutchens, wie in Procyaneus-Harnen und mitunter in Coli-Harnen, die Flasche durchgeschüttelt wurde, aber sonst die Entnahme von der obersten Schicht der Flüssigkeit stattfand.

Außer diesem Umstande, welcher die Bestimmung der Bakterienzahl wenig zuverlässig machte, wirkten noch andere Faktoren in derselben Richtung. Dazu gehörte die fast unvermeidliche Verdunstung und damit Hand in Hand gehende Konzentrationssteigerung der Kultur, trotzdem der Wattepfropfen mit einem Stück Papier, das mit einem Gummiring zugeschnürt wurde, umgeben war.

Die quantitative Bestimmung zweier Bakterienarten in derselben Flüssigkeit. Bedeutend wuchsen die Schwierigkeiten, wenn es zwei Bakterienarten in derselben Flüssigkeit quantitativ zu bestimmen galt. Bei sehr großem Unterschiede in ihrer Menge war es einfach unmöglich, einen Aufschluß darüber mittels des Plattenverfahrens zu erhalten. In einigen Fällen war es jedoch möglich, wenigstens eine approximative Vorstellung von diesem Verhältnisse zu bekommen, indem festgestellt werden konnte, in welcher Verdünnung noch beide Arten vorkommen, dann nämlich, wenn die eine Art irgend eine leicht konstatierbare Eigenschaft, wie z. B. Verflüssigung der Gelatine oder Gasbildung in zuckerhaltigen Nährmedien, besaß.

Bestimmung der Acidität resp. der Alkaleszenz des Harns. Gleichzeitig mit der Bakterienzählung wurde die Reaktion des Harns bestimmt. Es wurden stets 5 ccm zur Titrierung entnommen. Die Acidität wurde mit Phenolphtalein, die Alkaleszenz mit Lackmoid als

Indikator titriert. Bekanntlich ist die Titrierung des Harns infolge der amphoter reagierenden Phosphate sehr schwierig, und erheben die mitgeteilten Zahlen deswegen keinen anderen Anspruch als den der relativen Werte.

Zubereitung des Harns. Der zu den Versuchen verwandte Harn wurde teils in einem Krankenhause von Patienten, die keine Arzneien erhielten und die keine Krankheiten ihrer Harnwege aufwiesen, teils auch von gesunden Personen gesammelt, in einen großen, im Eiskeller stehenden Behälter getan, bis ca. 12 Liter zusammengebracht worden waren, was selten mehr als einige Tage dauerte. Dann wurde der Harn durch Chamberlandkerzen in ca. 2 Liter fassende Glasballons filtriert und auf einige Tage durch Hinstellen in den Thermostaten auf seine Sterilität geprüft. Ein Teil der Glasballons wurde als Behälter für die Blasenversuche verwandt, ein anderer Teil in Flaschen zu je 200 ccm und in Reagenzröhren verteilt. Vor jedem Versuch wurde konstatiert, daß die anzuwendenden Bakterien auch wirklich in dem Harn gediehen.

Es war offenbar ein Nachteil, Harne von verschiedener Beschaffenheit zu den verschiedenen Versuchen zu benutzen. Doch wurden, wenn irgend möglich, alle zur selben Serie gehörenden Versuche mit demselben Harn unternommen. Ein gewisser Vorteil lag jedoch auch in diesem Umstande, denn, wie später noch ausführlicher berichtet werden wird, wurden hierdurch einige nicht uninteressante Tatsachen festgestellt, die wahrscheinlich sonst der Beobachtung entgangen wären. Es spielen sonst so viele unbekannte Faktoren mit, daß, trotz zahlreicher Kontrollversuche, die Beurteilung der Versuchsergebnisse sehr erschwert, ja oft unmöglich gemacht wird.

Die untersuchten Bakterienarten. Beim Studium der Symbiose resp. des Antagonismus der Harnbakterien mußte ich mich auf einige wenige, gewöhnliche Arten beschränken. Ich wählte hierzu das Bacterium coli, einen Staphylococcus, einen Streptococcus, Bacillus pyocyaneus und den Proteus Hauseri. Von diesen Bakterien waren nur der Streptococcus und der Proteus aus pathologischen Harnen reingezüchtet, die anderen dagegen Laboratoriumskulturen von unbekannter Herkunft, da mir beim Beginn der Versuche keine anderen Rassen zugänglich waren. Ich glaube jedoch nicht, daß dieser Umstand von irgend welcher größeren Bedeutung gewesen ist, da diese drei Bakterien alle gut im Harn fortkamen und sich übrigens in jeder Hinsicht vollkommen wie aus pathologischen Harnen reingezüchtete Rassen verhielten.

Später habe ich 14 Coli-Rassen, 4 Staphylokokken- und 2 Pyocyaneus-Rassen aus den Harnwegen isoliert und mit den zu den Versuchen verwandten verglichen. Eine große Anzahl Kontrollversuche ist später mit einigen von diesen Bakterien ausgeführt worden, ohne daß wesentliche Unterschiede in den Resultaten hervorgetreten wären.

Ueber den Coli-Bacillus sowie über den Pyocyaneus und Proteus ist nichts Besonderes zu bemerken. Der Staphylococcus verflüssigte die Gelatine und rief eine kräftige ammonikalische Gärung im Harn hervor. Der Streptococcus war dieselbe Art, welche ich unter dem Namen Streptococcus urae non liquef. beschrieben habe und welche, wenigstens in Finnland, eine von den häufigsten Bakterien in pathologischen Harnen ist.

Am eingehendsten wurde die Symbiose zwischen dem Coli-Bacillus

und dem Staphylococcus untersucht, und es sollen deswegen diese Untersuchungen zuerst mitgeteilt werden:

Versuche mit Staphylokokken und Colibacillen.

Beispielshalber sei hier folgende, Monate hindurch beobachtete Versuchsserie ausführlich mitgeteilt:

Blasenversuche	Flaschenversuche	
	mit zwei Bakterien	mit einer Bakterie
I. Coli > Staphylococcus. 10 ccm 1-tägigigen Coliharns (= 1182 Mill. Coli) + 2620 Staphylokokken	No. 60. Coli > Staph. 200 ccm 1-tägigen Coliharns (= 23 640 Mill. Coli) + 2620 Staphylokokken	No. 64. Wachstumskurve für den allein wachsenden Coli. 200 cm Harn + 1182 Colibacillen
II. Staphylococcus > Coli. 10 ccm Staphylokokkenharns (= 262 Mill. Staph.) + 1182 Coli	No. 61. Staph. > Coli. 200 ccm Staphylokokkenharns (= 5424 Mill. Staph.) + 1182 Coli	No. 65. Wachstumskurve für den Staphylococcus. 200 ccm Harn + 2620 Staph.
III. Coli = Staph. 10 ccm Harn + 1182 Coli + 2620 Staph.	No. 62. Coli = Staph. 200 ccm Harn + 1182 Coli + 2620 Staph.	

Da die Blasen sich bald mit einem Streptokokken infizierten, bieten sie wenig Interesse und können übergangen werden. Statt dessen sollen weiter unten besser gelungene Blasenversuche mitgeteilt werden.

Die Flaschenversuche sind unten in tabellarischer Form wiedergegeben:

Flaschenversuche mit Staphylococcus und Bacterium coli in verschiedenen Kombinationen ergeben verschiedene Wachstumskurven.

Datum	No. 60. Coli > Staph.				No. 61. Staph. > Coli			
	Coli	Staph.	Reaktion	Mikr. Präp.	Coli	Staph.	Reaktion	Mikr. Präp.
18./10. nach $6^1/_2$ St.	118 M.	ca. 13			ca. 6	27 M.		
19./10.	138 M.	?	— 3,6	Staph. —	32 M.	16 M.	— 10	Coli > Staph.
20./10.	294 M.	?	— 3,6	Staph. —	0,13 M.	0,43 M.	+ 14	Staph. > Coli
22./10.								
23./10.					?	+	+ 20	Coli = 0
24./10.	94 M.	?	— 3,6	Staph. —	?	100	+ 24	
25./10.					—	—	+ 24	
26./10.	118 M.	?	— 2,2		—	—	+ 24	
30./10.		? [1])	— 1,2	∾ Coli > Staph.				
2./11.	56,3 M.	2,5 M.	— 1,2	Coli > Staph.				
3./11.	45 M.	1 M.		Coli > Staph.				
8./11.	22,3 M.	?	— 1,2	Coli > Staph.				
16./11.	47 M.	?	— 1,2	Coli > Staph.				
26./11.	32 M.	? [2])	— 0,3	Staph. = 0				
7./12.	2,56 M.	? [3])	+ 7	Coli > Staph.				
31./12.	1,48 M.	? [4])	+ 4	Coli > Staph.				
7./2.	2,12 M.	? [5])	— 1,0	Coli > Staph.				

1) Auf Schrägagar Coli in Reinkultur.
2) Auf Schrägagar ca. 100 Coli und 2 Staphylokokkenkolonieen.
3) Auf Schrägagar ca. 200 Coli und 5 Staphylokokkenkolonieen.
4) Auf Schrägagar zahlreiche Coli und einzelne Staphylokokkenkolonieen.
5) Auf Schrägagar zahlreiche Coli und einzelne Staphylokokkenkolonieen.

Datum	No. 62. Staph. = Coli				No. 64. Coli		Nr. 65. Staph.	
	Coli	Staph.	Reaktion	Mikr. Präp.	Coli	Reaktion	Staph.	Reaktion
18./10.	ca. 6	ca. 13	— 3,6		ca. 6	— 3,6	ca. 13	— 3,6
nach 6½ St.					41,700 M.		110	
19./10.	141 M.	5 M.	— 4,0		116 M.	— 4,0	29 M.	+ 4
20./10.	85 M.	3 M.	— 3,8				7,3 M.	+ 10
22./10.							0,836 M.	+ 14,5
23./10.							0,253 M.	+ 16,0
24./10.	+	+	— 2,0		97,5 M.	— 2,5	0,0212 M.	+ 18,0
25./10.								+ 20,0
26./10.	25 M.	?	— 1		149 M.	— 2,2	—	+ 20 0
30./10.	+	?	+ 8	Coli > Staph.		— 1,6	—	+ 22,0
2./11.	500	8 000	+ 12	Staph. > Coli	·			
3./11.								
8./11.	?	70 000	+ 9	Staph.?	27,3 M.	— 1,2		
16./11.	—	—	+ 8		94 M.	— 1,4		
26./11.	—	—	+ 7			— 1,0		
7./12.					17 M.	— 0,8		
31./12.					4,5 M.	— 0,8		
7./2.					3,7 M.			

Zu der Tabelle einige Erläuterungen. Die Zahlen geben die Anzahl der Kolonieen in einem Kubikcentimeter an. M. bedeutet Millionen. In der ersten horizontalen Reihe sind die pro 1 ccm berechneten Anfangsdosen angeführt. Ein ? bedeutet, daß es durch das Verdünnungsverfahren nicht zu ermitteln gelang, ob die betreffende Bakterienart vorkam. Oft gelang es dann in diesen Fällen, wo also in den Platten nur die eine Art gefunden wurde, durch Ausstrich direkt vom Harn auf Schrägagar auch die andere Art aufzuweisen, was näher in Fußnoten angegeben ist. In Anbetracht der großen Schwierigkeit, bei einigermaßen großer Kolonieenzahl auf der Platte das relative Mengenverhältnis der Bakterienarten zu bestimmen, machen die Zahlen keinen Anspruch auf Exaktheit. Dagegen entspricht die Summe beider Zahlen stets genau der Gesamtzahl der Kolonieen. Der Harn wurde mit einem —-Zeichen so lange als sauer bezeichnet, als er mit Phenolphtalein keine Reaktion gab, obwohl er allerdings viel früher auf Lackmuspapier alkalisch resp. amphoter reagierte. Bei positiver Reaktion mit Phenolphtalein wurde, wie erwähnt, mit Lackmoid titriert. Die Zahlen geben stets an, wie viel Kubikcentimeter von einer $^1/_{10}$ normal Salzsäure- resp. Natronlösung zur Neutralisation von 10 ccm Harn erforderlich waren.

Wenn es sich um ältere Kulturen handelt, kann man sich nicht gut auf die mikroskopische Untersuchung verlassen, da der größte Teil der Bakterien sich sehr schlecht färben läßt und wahrscheinlich tot ist. Ein angeblich positiver Befund bedeutet deshalb nur, daß gutgefärbte Individuen in den Präparaten zu sehen waren. Ein —-Zeichen bedeutet, daß die Kulturen steril blieben. Wo kein Zeichen, ist keine Untersuchung vorgenommen worden.

Trotz mancher Mängel der Versuche geht doch einiges mit Sicherheit hervor, namentlich wenn man die Befunde mit den Ergebnissen ähnlicher Versuche vergleicht.

Betrachten wir erst No. 65, die Wachstumskurve für den Staphylococcus. Nach ca. 24 Stunden erreichte die Individuenzahl ihr Maximum, um mit der steigenden Alkaleszenz auf Null herabzufallen, was nach 7 Tagen geschah.

In No. 62 wuchs dieselbe Anfangsdosis von Staphylokokken mit ungefähr derselben Anzahl Coli-Bacillen. Der Einfluß der Symbiose machte sich darin geltend, daß die Wachstumskurve des Staphylococcus möglicherweise nicht dieselbe Höhe erreichte als in No. 65 und daß die Sterilität des Harns erst zwischen dem 21. und 29. Tage erreicht wurde, was wahrscheinlich mit der geringeren und langsamer ansteigenden Alkaleszenz in Zusammenhang zu bringen ist.

Die Gegenwart der kleinen Coli-Dosis in dem Staphylokokkenharne (No. 61) übte keinen merkbaren Einfluß auf die Wachstumskurve des Staphylokokken aus.

In No. 60 schließlich, in dem Coli-Harn, dauerte es sehr lange, ca. 12 Tage, ehe dieselbe Staphylokokkendosis sich so weit hinaufgearbeitet hatte, daß Kokken überhaupt in mikroskopischen Präparaten sichtbar wurden. Am 15. und 16. Tage konnten beide Bakterienarten trotz hoher Verdünnung in denselben Platten aufgefunden werden. Von nun ab fiel die Individuenzahl wieder, und zwar rascher als die des Coli-Bacillus, so daß beide Bakterien nicht mehr in denselben Verdünnungen mittelst des Plattenverfahrens aufgefunden werden konnten, aber noch auf Schrägagar[1]) nebeneinander angetroffen wurden. Nach ca. 4 Monaten wurde der Versuch abgebrochen.

Wenden wir uns nun zu dem Coli-Bacillus. Allein für sich im Harn gewachsen, lebte er Monate lang, während die Acidität allmählich herunterging, möglicherweise mit einer Aciditätssteigerung im Anfange. Trotzdem der Harn alkalisch auf Lackmus reagierte, konnte ich nie mit Phenolphtalein eine positive Reaktion erhalten. Dies nur nebenbei, weil man sich eine Zeitlang darüber stritt, ob der Coli-Bacillus den Harn alkalisch machen kann oder nicht.

Das Maximum des Bakteriengehaltes wurde bald, binnen 1—2 Tagen, erreicht, um dann sehr langsam abzufallen. Doch scheint es, und dies zeigen auch einige andere Versuche, als ob nach einiger Zeit ein Anstieg, der das erste Maximum sogar überschreiten kann, wieder erfolgte. Nach Kontrollversuchen zu beurteilen, ist es sehr unwahrscheinlich, daß diese Befunde nur Versuchsfehlern zuzuschreiben seien. Vielleicht ist die nicht ganz vermeidbare Konzentration des Harns durch Verdunstung die Hauptursache zu diesem Resultat.

In No. 62, wo die beiden Bakterien in fast gleicher Anfangsdosis vorhanden waren, vermehrte sich der Coli-Bacillus anfangs normal und überflügelte rasch den Staphylococcus, aber mit der zunehmenden Alkaleszenz des Harns verringerte sich seine Menge rasch, bis er schon am 15. Tage nur vereinzelt vorkam, um am 21. Tage, bereits einige Tage früher als sein Nebenbuhler tot zu sein.

Hatte der Coli-Bacillus wieder mit einer großen Uebermacht von Staphylokokken, wie in No. 61, zu tun, so konnte er zwar anfangs eine beträchtliche Keimzahl erreichen, aber schon nach 5 Tagen war er tot.

War der Coli-Bacillus schließlich in sehr großer Majorität (No. 60) vorhanden, so schien eine geringe Anzahl Staphylokokken keinen merkbaren Einfluß auf die Wachstumskurve auszuüben. Die Reaktion wurde nach ca. 2 Monaten vorübergehend schwach alkalisch.

Blasenversuche mit Staphylokokken und Colibacillen ergeben, daß eine geringe Zahl Colibacillen eine Staphylokokkenmajorität verdrängen kann.

---

1) Ueber die mutmaßliche Ursache dieses Verhaltens will ich mich hier nicht aussprechen. Warum aber aus den Verdünnungen nur die eine Art gezüchtet werden kann, ist sehr einleuchtend. Es braucht nur die eine Art z. B. eine ca. 1000mal oder noch größere Individuenzahl als die andere Art zu besitzen, so ist es klar, daß es ein reiner Zufall sein muß, wenn in eine Platte mit einigen hundert Kolonieen auch die andere Art hineingelangt.



Blasenversuche. Miktionsintervall ca. 5 Stunden	Entsprechende Flaschenversuche	
I. Staph. > Coli. 10 ccm 1-täg. Staphylokokkenharns (= 450 Mill. Staph.) + 2800 Coli. **Resultat:** Nach 1 Tage: Staph. in Reinkultur. Einzelne Coli in Präparaten. Nach 2 Tagen: In den Platten Staph. zahlreicher als Coli. Nach 3 Tagen: Das umgekehrte Verhältnis. Nach 4 Tagen: Nur Coli. Nach 5 Tagen: Coli in Reinkultur. Einzelne Staph. in Präparaten. Nach 7 Tagen: Coli in Reinkultur.	No. 14. Staph. > Coli. 100 ccm 1-tägigen Staphylokokkenharns (= 4500 Mill. Staph.) + 28000 Coli. **Resultat:** Während einiger Tage Colibacillen in mikroskopischen Präparaten; die ganze Zeit Staph. in Reinkultur. Harn steril nach 9 Tagen.	No. 11. Wachstumskurve des Staphylococcus. **Resultat:** Der Harn stark ammoniakalisch u. steril nach 9 Tagen. No. 12. Wachstumskurve des Colibacillus. **Resultat:** Coli lebt monatelang im Harn.
II. Coli > Staphylococcus. 2800 Mill. Coli + 450 Staph. **Resultat:** Während 4 Tage Coli in Reinkultur.	No. 15. Coli > Staph. 28000 Mill. Coli + 4500 Staph. **Resultat:** Noch nach 3 Wochen Coli in Reinkultur.	

Ganz gleich verliefen die Versuche, wenn statt 1-tägigen Coli- resp. Staphylokokkenharns Bakterienaufschwemmungen verwendet wurden, wie folgende Versuchsserie es demonstriert:

Blasenversuche mit Aufschwemmungen von Staphylokokken und Colibacillen zeigen, daß der Colibacillus die Staphylokokken vertreiben kann.

Blasenversuche. Miktionsintervall ca. 5 Stunden	Entsprechende Flaschenversuche	
Blase I. Staph. > Coli. 164 Mill. Staph. + 5000 Colibacillen. Nach 1 Tage: Coli eben in der Majorität. Nach 2 Tagen: Coli in ausgesprochener Majorität. Nach 4 Tagen: Coli in Reinkultur vorhanden.	No. 16. Staph. > Coli. Mengenverhältnis wie in der Blase I. Nach 2 Tagen: Colimajorität. Nach 4 Tagen: Staph. in Reinkultur. Nach 6—11 Tagen: Harn steril.	Kontrollflaschen zeigten, daß der Staph. zwischen dem 6.—11. Tage starb. Der Colibacillus lebte Monate hindurch.
Blase II. Coli > Staph. 500 Mill. Coli + 164000 Staph. Nach 1 Tage: Nur Colibacillen. Nach 4 Tagen: Nur Colibacillen.	No. 18. Coli > Staph. Mengenverhältnis wie in der Blase II. Der Staphylococcus konnte während der 18-täg. Beobachtungszeit nicht aufkommen.	

Versuche mit Coliharn resp. Filtraten und verschiedenen Staphylokokkenquantitäten.

Die Versuche No. 60—65 deuteten darauf hin, daß die Größe der primären Staphylokokkendosis, die Menge der Alkalibildung und der Ausgang des Versuches zu Gunsten der einen oder der anderen Bakterienart in kausaler Beziehung zueinander standen. Um dies Verhältnis näher zu ergründen und um festzustellen, ob, wie dies einige frühere Versuche vermuten ließen, ein Staphylokokkenminimum nötig sei, um überhaupt im Coli-Harn zur Entwickelung gelangen zu können, wurde folgende Versuchsserie angestellt. Dabei wurden auch bakterienfreie

Coli-Harnfiltrate benutzt, um eine orientierende Vorstellung über die Verwendbarkeit derselben für weitere Untersuchungen zu erhalten.

Versuchstechnik. Um die zeitraubende zahlenmäßige Bestimmung der Bakterien zu umgeben, wählte ich als Indikator für das Wachstum die Reaktionsveränderung, welche ja seitens des Staphylococcus die auffallendste Lebensäußerung ausmacht. Außerdem wurde der Harn mikroskopisch untersucht und Kulturen auf Schrägagar angelegt.

Es wurde folgendermaßen vorgegangen. 3 Liter Harn wurden mit Bacterium coli infiziert, nach 48 Stunden die eine Hälfte durch Chamberland filtriert und in sterile Flaschen zu je 100 ccm verteilt. Desgleichen wurde mit der anderen unfiltrierten Hälfte verfahren.

In üblicher Weise wurden 10 Verdünnungen einer Staphylokokkenagarkulturaufschwemmung hergestellt und damit die Kultur- ebenso wie die Filtratflaschen und noch eine dritte mit normalem Harn mit den Verdünnungen, wie die Tabelle zeigt, geimpft. Zu der dritten Reihe wurden meistens Reagenzgläser benutzt.

No. der Flasche	Staphylokokkendosis	Coliharn						
		30./10.	31./10.	2./11	5./11.	18./11.	8./12.	6./2.[1]
66	9600 Mill.	—3,6 C=S	—2,1 C=S	—1,0 C S	+10	+13	K=S	+4,5 K=S
67	2400 „	—3,6 C=S	—2,6 C=S	—0,7 C S	+ 7	+10	steril	
69	240 „	—3,6 C>S	—3,0 C>S	—1,5 C>S	+ 4	+ 8	K=S	+5 K=S
72	24 „	—3,6 S 0	—3,2 S 0	—2,0	— 1	+ 6	+8 K=C>S	—1 P=C>S K=C
75	2,4 „	—3,6	—3,2 S 0	—2,4 S 0	—1,2	—0,8	—0,6 K=C	—0,4 K=C>S
78	240 000		—3,0 S 0	—2,2 S 0	—1,2	—0,5	verunreinigt	K=C
81	24 000		—3,0 S 0	—2,2 C>S	—1,4	+ 7	K=C	+4 P=C>S K=C
84	2 400		—3,0 S 0	—2,2 S 0	—1,6	—1,2	K=C	—1,0 K=C
87	240		—3,0 C>S	—2,4 S 0	—1,4	—1,2	K=C	—1,2 K=C
90	24		—3,0 S 0	—2,3 S 0	—1,6	—1,0	K=C	—1,0 K=C
93	4		—3,0 S 0	—2,2 S 0	—1,6	—1,2	K=C	—1,0 K=C
96 (Kontr.)	0	—3,6	—3,0 S 0	—2,6	—1,6	—1,2	—1,0	

No. der Flasche	Staphylokokkendosis	Filtrat						No.	Normaler Harn			
		30./10.	31./10.	2./11.	5./11.	18./11.	8./12.		30./10.	31./10.	2./11.	5./11.
68	1200 Mill.	—2,4	—1,2	+9	+10	+14	steril					
70	240 „	—2,7	—1,4	+9	+8	+14	„	71	+6	+10	+16	+20 steril
73	24 „	—3,4	—2,0	+7	+8	+14	„	74	—	+10	—	—
76	2,4 „	—	—2,2	—1,2	+7	+12	„	77	—	—	—	—
79	240 000	—	—2,5	—1,4	+6	—	„	80	—	+8	—	—
82	24 000	—	—3,0	—1,2	+7	+11	„	83	—	+10	+11	+14 K+
85	2400	—	—3,2	—1,4	+6	+12	„	86	—	—	—	+11
88	240	—	—3,0	—1,4	+8	+15	„	89	—	—	—	
91	24	—	—3,2	—2,2	—2,0	+15	verunreinigt	92	—	+7		
94	4	—	verunreinigt					95	—	—0,5		

Erklärung der Bezeichnungen: — und + vor den Zahlen bedeuten Acidität resp. Alkaleszenz. Die Zahlen geben den Grad der Acidität resp. der Alkaleszenz an. Daß keine Untersuchung stattfand, ist der Uebersichtlichkeit der Tabelle wegen meistens mit — bezeichnet, was wohl kaum zur Verwechselung Anlaß geben kann. C und S bedeuten Coli resp. Staphylococcus. C=S und C>S bedeuten, daß C und S in den mikroskopischen Präparaten in etwa derselben Anzahl, resp. daß Coli zahlreicher vorhanden war. S 0 bedeutet, daß in den Präparaten keine Staphylokokken zu sehen waren. Ausnahmsweise ist der Befund in den Präparaten mit P= bezeichnet, um den Unterschied zwischen dem Befund in den Kulturen (K=) hervorzuheben.

1) Am 30. März war der kulturelle Befund in allen Flaschen unverändert.

In der vorstehenden Tabelle haben nur einige von den sehr zahlreichen, anfangs täglich, später jede Woche vorgenommenen Beobachtungen Platz finden können.

Abgesehen von einigen auf Verunreinigung u. s. w. beruhenden Unregelmäßigkeiten ergibt sich beim Mustern der horizontalen Reihen der Tabelle, daß von einer bestimmten Staphylokokkenquantität der normale Harn am schnellsten, weniger schnell das Filtrat und der Coli-Harn am langsamsten alkalisch gemacht wird. Man vergleiche z. B. No. 69, 70 und 71 miteinander. Am höchsten stieg die Alkaleszenz im normalen Harn, am wenigsten im Coli-Harn. Nach einiger Zeit sank die Alkaleszenz wieder, so daß die Reaktion sogar sauer werden konnte. Es muß also der Coli-Bacillus den Harn so verändern können, daß die Alkaleszenzbildung durch den Staphylococcus erschwert wird. Da der Staphylococcus am raschesten seinen Lebenslauf im normalen Harn, weniger rasch im Filtrat vollendet hatte, während er noch nach ca. 5 Monaten in einigen Coli-Harnen entweder allein oder mit dem Coli-Bacillus vergesellschaftet anzutreffen war, scheint mir der Schluß zwingend, daß es die Alkalibildung oder jedenfalls ein damit parallel verlaufender Prozeß sein muß, welche das Absterben der Staphylokokken im Harn bewirkt.

Beim Betrachten der vertikalen Reihen der Tabelle erhellt weiter, daß die höheren Staphylokokkendosen rascher als die niedrigeren die Flüssigkeiten alkalisch machten. Durch die kleinsten Dosen wurden übrigens nur das Filtrat und der normale Harn, aber der Coli-Harn überhaupt nicht alkalisch gemacht.

Wo der Coli-Harn am raschesten und dauernd alkalisch wurde, nämlich in den Flaschen No. 66, 67 und 69 mit den höchsten Staphylokokkendosen, starben die Coli-Bacillen rasch und nur die Staphylokokken blieben am Leben.

Wo der Coli-Harn weniger rasch und weniger stark alkalisch oder nur vorübergehend alkalisch wurde (wie in No. 72, 75, 81 mit den mittleren Staphylokokkendosen), kamen zwar die Staphylokokken zum Vorschein, bei den höheren Anfangsdosen in den Kulturen, bei den niedrigeren Dosen nur in Präparaten, aber die Coli-Bacillen bildeten doch stets eine gewaltige Majorität.

Wo der Coli-Harn schließlich dauernd sauer blieb (nämlich in No. 84, 87, 90 und 93 mit den kleinsten Staphylokokkendosen), kamen die Staphylokokken offenbar gar nicht zur Entwickelung, da sie weder in Präparaten noch in Kulturen aufzufinden waren.

Es geht also unzweifelhaft aus diesen Versuchen hervor, daß es die Alkalibildung (oder jedenfalls irgend ein damit parallel verlaufender Prozeß) ist, wodurch der Staphylococcus den Coli-Bacillus bekämpft. Erreicht die Alkalibildung eine genügende Höhe, so siegt der Staphylococcus; beim mittleren Wert können beide Bakterien lange nebeneinander fortleben; bleibt der Harn sauer, siegt auch der Colibacillus. Die Höhe der Alkalibildung ist direkt abhängig von der Größe der primären Staphylokokkendosis. Ist dieselbe zu klein — hier zwischen 24000 und 2400 — so kommt sie gar nicht zur Entwickelung. Sie wird von den Coli-Bacillen vernichtet.

Wenn das Absterben der Staphylokokken und der Coli-Bacillen in einem Harn, worin sie beide zu gleicher Zeit gewachsen sind, auf dieselbe Ursache zurückzuführen ist, und alles spricht dafür, so zeigt die Tabelle, ganz wie alle früheren Versuche, daß die Coli-Bacillen viel

empfindlicher als die Staphylokokken gegenüber derselben sind. Und da das hierbei wirksame Prinzip, allem Anscheine nach, identisch mit den von den Staphylokokken erzeugten, in Zusammenhang mit der ammoniakalischen Harngärung stehenden Stoffwechselprodukten ist, so kann der Sachverhalt auch so ausgedrückt werden, daß die Stoffwechselprodukte des Staphylokokken im Harn eine kräftigere hetero- als isantagonistische Wirkung ausüben.

Die hemmende Wirkung der Coli-Majorität auf den Staphylococcus äußert sich ganz wie in den Versuchen der Serie No. 60—65 paradoxalerweise in einer Verlängerung des Lebens des letzteren. Dies ist doch bei näherer Ueberlegung leicht begreiflich, denn es kann z. B. auch eine niedrige Temperatur alle Lebensprozesse herabsetzen und dadurch das Leben einer Kultur verlängern.

Auch im Coli-Harnfiltrat war eine Verlängerung des Lebens und eine Verlangsamung der Lebensprozesse des Staphylococcus unverkennbar. Darüber unten noch des näheren.

Zusammenfassung der Versuchsresultate. In wenigen Worten zusammengefaßt, haben die bisher mitgeteilten Versuche also ergeben: 1) daß Blasen- und Flaschenversuche ein diametral entgegengesetztes Resultat liefern können, und 2) daß das primäre Mengenverhältnis in Flaschenversuchen von der größten, in Blasenversuchen dagegen von keiner Bedeutung ist. Man kann also nicht kurzweg behaupten, daß der Staphylococcus ein Antagonist gegen den Coli-Bacillus ist, oder das Umgekehrte. Beide üben eine gegenseitige Wirkung aufeinander aus, die von mehreren Umständen abhängt.

Der Staphylococcus kann in Reagenzglasversuchen den Coli-Bacillus töten, und zwar um so rascher, in je größerer Anfangsdosis er vorhanden ist. Umgekehrt kann der Coli-Bacillus die Entwickelung des Staphylokokken sehr verzögern und dadurch seine Lebensdauer außerordentlich verlängern. Bei großem numerischen Uebergewicht kann er eine gewisse Staphylokokkendosis sogar töten.

In Blasenversuchen überflügelt der Coli-Bacillus meistens rasch den Staphylococcus und kann ihn vollständig vertreiben.

Worauf beruht der Ausgang der Versuche mit Staphylokokken und Colibacillen?

Bekanntlich werden sowohl das Absterben der Bakterien in einer alternden Kultur als die Erscheinungen des Antagonismus vor allem auf die Erschöpfung des Nährbodens und auf schädliche Stoffwechselprodukte, besonders Säuren und Alkalien, zurückgeführt. Inwieweit sind nun diese Erklärungen für die oben angeführten Experimente zutreffend?

Wie kommt die is- und heteroantagonistische Wirkung des Staphylococcus zu stande? Am einfachsten scheinen die Verhältnisse für den Staphylococcus in den Flaschenversuchen zu liegen und sollen deswegen zuerst besprochen werden.

(Fortsetzung folgt.)

Ueber eine an Menschen und Ratten beobachtete Mykose.

Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Sporothrichosen.

Zweiter Teil.

Von Dr. **A. Lutz** und Dr. **A. Splendore** in S. Paulo (Brasilien).

Mit 1 Tafel.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

Zur Ergänzung unserer früheren Mitteilungen wollen wir hier Tatsachen und Belege anführen, und zwar unter Beifügung von Photographieen und Zeichnungen, welche ein deutliches Bild von den am Menschen und an spontan infizierten Mäusen sowie auch an Versuchstieren beobachteten mykotischen Veränderungen und von dem von uns isolierten und kultivierten Erreger geben sollen. Die auf den Menschen bezüglichen Fälle waren, wie schon gesagt, 5 an der Zahl, von denen einige aus der Privatklinik unseres Freundes und Kollegen Dr. W. Seng stammten. Wir schulden ihm unseren Dank, da er so freundlich war, die Photographie des 5. Falles, die wir hier wiedergeben, anzufertigen und uns bei den Radiographieen der Mäuse zu unterstützen.

Diese Fälle wurden alle ambulatorisch beobachtet, abgesehen von einem, der eine Zeitlang in unserer Beobachtung im italienischen Hospital „Umberto I" blieb. Von diesem letzten Falle, der sehr typisch ist, werden wir die Krankengeschichte vollständig wiedergeben, während wir bei den anderen der Kürze halber nur zusammenfassende Bemerkungen machen werden.

Die Patienten waren alle Europäer, die indessen schon seit langer Zeit in Brasilien wohnten.

Die erste Beobachtung geht auf das Jahr 1902 zurück und bezieht sich auf einen 20-jährigen Laboratoriumsdiener spanischer Nationalität. Derselbe stellte sich mit verschiedenen, auf dem linken Unterarme verstreuten Ulcerationen vor. Der Kranke konnte keine anamnestischen Angaben über das Auftreten derselben machen; nichts warf ein Licht auf die nächste oder weiter zurückliegende Geschichte der Krankheit; es ergaben sich weder frühere noch vererbte noch augenblicklich bestehende Krankheiten, wie Tuberkulose oder Syphilis. Der Organismus des Individuums besaß eine gute Konstitution und kein inneres Organ erwies sich als krank; auch zeigte sich das Allgemeinbefinden nicht durch die Armaffektion beeinträchtigt. Diese bestand hauptsächlich in Ulcerationen von geringer Tiefe, ovaler Gestalt, mit granuliertem Grunde und tief ausgehöhlten Rändern, abgesehen von kleinen subkutanen Tumoren. Von den letzten hatten einige eine hart-elastische Konsistenz und die Größe einer dicken Erbse, andere waren etwas weicher und von der Größe einer kleinen Nuß. Die erste Art war von normaler, die zweite von etwas geröteter Haut bedeckt; man hatte es hier augenscheinlich mit einem der Ulceration vorangehenden Stadium zu tun. Die Zahl dieser pathologischen Veränderungen war nicht höher als ungefähr 10. Ulcera und Tumoren waren spontan nicht schmerzhaft, sondern verursachten nur auf Druck ein geringes Gefühl des Unbehagens.

Es bestand weder Fieber noch eine Infiltration der Lymphdrüsen.

Oeffnete man einen von diesen Tumoren unter den gehörigen antiseptischen Kautelen, so entleerte sich eine eitrige Flüssigkeit. Injizierte man einen Teil des Eiters und der zerriebenen Granulationen einem männlichen Meerschweinchen intraperitoneal, so ließ sich keine Infektion hervorrufen. Der Kranke wurde innerlich mit Jodkalium behandelt und in wenigen Tagen verschwanden die beschriebenen Veränderungen vollkommen.

Im zweiten Falle, den man am Ende des Jahres 1903 beobachtete, handelte es sich um einen 45-jährigen italienischen Schlächter. Dieser zeigte eine Ulceration auf dem Rücken der zweiten Phalanx des rechten Zeigefingers. Anamnestisch ließ sich weder hereditär noch persönlich etwas herausbekommen, ebenso entdeckte man am Körper, der sich im allgemeinen als gesund erwies, keine Anzeichen von Infektion.

Der Patient erzählte, daß die augenblickliche Affektion wie ein kleiner Furunkel angefangen hätte, den er auf einen unbemerkt passierten Insektenstich zurückführte.

Die Ulceration zeigte erhabene tief ausgehöhlte Ränder von speckigem Aussehen und hatte einen granulierten Grund. Außerdem existierten noch zwei kleine subkutane Knötchen in der dorsalen Gegend des entsprechenden Handgelenkes von der Größe einer kleinen Erbse von hartelastischer Konsistenz, die mit der Haut zusammenhingen, aber an ihrem Grunde frei waren. Die Haut zeigte sich normal. Die kleinen Geschwülste waren nicht schmerzhaft. Es bestand keine Infiltration der Lymphdrüsen der betreffenden Region noch irgend eine Störung im Allgemeinbefinden. Bei Eröffnung der kleinen Knötchen entleerte sich eine trübe seröse Flüssigkeit. Man untersuchte dieselbe mittels Färbung, legte von ihr auf verschiedenen Nährböden Kulturen an und injizierte sie einem Meerschweinchen intraperitoneal. Bei der mikroskopischen Untersuchung ließen sich keine Mikroorganismen entdecken. Von den Kulturen entwickelte sich nur bei einer ein Hyphomycet, dessen Eigenschaften denjenigen entsprechen, die wir unten beschreiben werden. Das Meerschweinchen zeigte nach ein paar Wochen an der Inokulationsstelle eine kleine Infiltration, die aber sehr rasch resorbiert wurde, ohne Spuren zu hinterlassen. Die Ränder des Ulcus zeigten auf Schnitten, die nach der Methode von Weigert und Sanfelice untersucht worden waren, in spärlicher Menge ovalen Torula-Formen ähnliche Elemente und sehr selten Hyphenbruchstücke.

Bei dem Kranken nahm Dr. Seng eine Plastik der ulcerierten Gegend vor und auf Anraten von Dr. Lutz erhielt er hohe Dosen von Jodkalium innerlich. Unter dieser Behandlung wurde er völlig wiederhergestellt.

Der dritte Fall, den wir in demselben Jahre (1903) wie den vorhergehenden beobachtet haben, betrifft einen 25-jährigen Italiener, der ebenfalls Schlächter war.

Der Kranke zeigte eine Reihe von subkutanen Knötchen in verschiedenen Regionen der linken oberen Extremität. Hereditär oder persönlich ließ sich nichts eruieren, weder Anzeichen von Syphilis noch einer anderen frischen oder alten Infektion.

Der Patient erzählte, daß er eines Tages bei der Arbeit durch einen Knochen verwundet worden wäre, von dem einige Bruchstücke in die erste Phalanx des dritten linken Fingers eingedrungen wären. Nachdem diese Bruchstücke herausgezogen waren, schloß sich die Wunde in wenigen Tagen, die Gegend blieb aber ein wenig geschwollen und Patient

hatte hier ein Fremdkörpergefühl. Nach 2 Monaten ungefähr bemerkte er an der Beugeseite des Ellenbogens einen Knoten; nach kurzer Zeit traten an der ganzen Extremität noch andere auf, von denen einige nach 5 oder 6 Wochen zur Ulceration kamen. Hierauf nahm der Kranke ärztliche Hilfe in Anspruch. Bei der Untersuchung zeigte der Patient folgende krankhafte Veränderungen: Eine Ulceration an der dorsalen Seite der ersten Phalanx des dritten linken Fingers, welche die ganze Gelenkgegend einnahm; sie hatte eine ovale Form, war etwas breiter als 1 cm, hatte einen granulierten Grund und harte, speckige, am Grunde ausgehöhlte Ränder. Ferner befand sich ein Knoten in der medianen Gegend des Vorderarmes, drei in der Ellenbogenfalte und einer im unteren Drittel des Armes; außerdem waren noch drei andere kleine unsichtbare, aber palpable Knötchen an demselben Arme vorhanden. Alle Veränderungen lagen auf der Beugeseite der Extremität.

Diese Knötchen waren von harter, teigiger Konsistenz, spontan nicht schmerzhaft und mit der Haut, an der sie anhafteten, beweglich. Einige hatten die Größe einer kleinen Haselnuß, andere eines kleinen Taubeneies, wieder andere waren noch kleiner, unbemerkbar, aber palpabel und hatten die Größe einer großen Erbse.

Die Haut, welche diese letzteren bedeckte, war vollkommen normal, während die über den größeren Knoten liegenden Hautpartieen gerötet waren und sich als dicht vor der Ulceration stehend erwiesen. Der größere Tumor, der an der radialen Seite der Ellenbogenfalte lag, zeigte schon eine kleine Oeffnung, die größeren offenen Tumoren ließen eine seröse eiterähnliche Substanz austreten, welche bei mikroskopischer Untersuchung mit verschiedenen Färbemethoden nur in einem einzigen Präparate spärliche Torula-Formen zeigte, die denen des vorhergehenden Falles ähnlich waren. Gleiche Formen fanden sich auch in einigen Schnitten durch Granulationen; die Kulturen jedoch blieben steril. Die kleinen Tumoren des Armes verschwanden ohne lokale Behandlung nach einer internen Verabreichung von Jodkalium ebenso wie die anderen Veränderungen nach chirurgischer Behandlung geheilt wurden.

Der vierte Fall, der im italienischen Hospital „Umberto I“ im Jahre 1905 beobachtet wurde, gestaltet sich folgendermaßen: G. V., 29-jähriger italienischer Krankenwärter. Seine Eltern und ein Bruder leben und sind gesund. Er hat nicht Syphilis gehabt und ist nicht Alkoholiker, aber starker Raucher. In den letzten Jahren hat er an Diabetes mellitus gelitten; er erinnert sich aber nicht, abgesehen von der jetzigen Krankheit, andere gehabt zu haben. Er erzählt, daß er im September eines Morgens bei einer Armbewegung einen Stich in einem Finger fühlte.

Welcher Natur das Leiden sei, konnte der Kranke nicht erkennen. Er bemerkte einen starken Schmerz, als er sich eine kleine blutende Wunde an der Dorsalfläche des Gelenkes des linken Zeigefingers zuzog; die Wunde heilte aber in wenigen Tagen nach Desinfektion mit Sublimatwasser und Behandlung mit Jodoform. Einige Wochen nach diesem Ereignisse aber bemerkte der Patient ein Gefühl von Eingeschlafensein in der betreffenden Extremität und es trat ein kleines Knötchen in dem unteren Teile der Beugeseite des Vorderarmes auf. Spontan war es indolent, aber bei Druck trat ein stechender Schmerz auf. Es war ein Knötchen so groß wie eine kleine Erbse und von rötlicher Farbe. Ein Heilkundiger, dem es gezeigt wurde, öffnete und ätzte es mit Höllenstein. Diese kleine Affektion heilte in einigen Tagen und ließ eine sehr deutliche Narbe zurück. In der Zwischenzeit aber traten andere Knötchen

an derselben Extremität auf, wodurch das Gefühl von Eingeschlafensein noch gesteigert wurde. Aus diesem Grunde trat der Kranke im April 1905 in das italienische Hospital „Umberto I“ ein, um sich dort behandeln zu lassen.

Status praesens: Statur und Skelett regelmäßig entwickelt, Muskulatur stark, Panniculus adiposus normal.

An der rechten Lumbalseite hat er eine kleine Narbe, welche auf einen Furunkel, an dem er gelitten hat, zurückzuführen ist; am Nacken ist ein kleines Atherom. Am linken Arme befinden sich einige Veränderungen, die wir gleich beschreiben wollen.

An der Beugeseite des unteren Drittels des Vorderarmes bemerkt man eine kleine unregelmäßige Narbe an der Radialseite; dieselbe liegt quer über den Sehnen des Flexor superficialis communis, hat eine unregelmäßige Gestalt und eine Länge von etwa $1^1/_2$ cm (Aetznarbe).

Nahe an der Ellenbogenfalte, und zwar direkt an ihrem ulnaren Ende, bemerkt man eine 3 cm lange runde Infiltrationszone, auf welcher sich ein großer kuppelförmiger Knoten befindet, der sich allmählich von der Oberfläche erhebt. Er hängt mit der Haut zusammen und hat eine rotbraune Farbe, welche nach der Peripherie zu immer blasser wird und am dunkelsten rot an der höchsten Stelle ist, wo man auch eine Epidermisabschürfung bemerkt.. Um diesen größeren Knoten herum liegen drei andere kleine von der Größe einer Erbse, die von einer blasser gefärbten Epidermis bedeckt sind. Auch diese hängen mit der Haut zusammen und man fühlt bei der Palpation eine Verbindung zwischen dem großen und den kleinen Knoten. Alle diese Knoten sind mit der Haut verschieblich und nicht mit den darunterliegenden Muskeln verwachsen.

Bei der Betastung des großen Knotens zeigt sich Fluktuation, die bei den kleinen fehlt. Sie sind spontan nicht schmerzhaft, verursachen aber bei Druck ein unangenehmes Gefühl des Stechens. An der Dorsal-(Streck-)Seite des Armes bemerkt man zwischen dem oberen und unteren Drittel einen anderen Knoten derselben Natur, der aber länglich ist und parallel der Längsrichtung der Extremität liegt. Derselbe ist 2 cm lang und 1 cm breit und scheint die Vereinigung von zwei kleineren Knötchen darzustellen. Die Haut, welche diese Infiltration bedeckt, ist von blaßroter Farbe und zeigt in ihrer oberen Schicht einige Abschürfungen. Fluktuation ist nicht bemerkbar. Auf der Streckseite des Vorderarmes im allgemeinen und an der ulnaren Hälfte im besonderen bemerkt man im oberen und mittleren Drittel eine Reihe von Infiltrationen von unregelmäßiger rundlicher Form von der Größe eines Hirsekornes bis zu der eines Fünffrancstückes, deren Oberfläche rotbraun ist. Das mittlere Drittel des Vorderarmes ist allgemein infiltriert, wie man bei der Palpation feststellen kann, und zwar lassen sich hier verschiedene etwas erhabene und rote Stellen unterscheiden. In dem zwischen den verschiedenen oben beschriebenen Knötchen liegenden Raume kann man an den Stellen, wo die Haut ein normales Aussehen zeigt, subkutane bei der Inspektion unsichtbare Knötchen palpieren, und zwar ist man imstande, am ganzen Vorderarme im ganzen eine Zahl von 15 Knoten festzustellen.

Die Achseldrüsen sind nicht fühlbar. Beim Heben des Armes hat der Patient ein Gefühl von Ameisenlaufen; außerdem bemerkt er in dem kranken Vorderarm eine Abnahme der groben Kraft.

Bei der Eröffnung der größeren Knoten unter allen Kautelen der

Antisepsis beobachtet man ein Austreten eines serösen eiterähnlichen Materiales. Bei der direkten mikroskopischen Untersuchung mit Hilfe verschiedener Reagentien und Färbungsmethoden ließen sich keine Mikroorganismen erkennen, sondern nur einige spärliche an ovale Torula-Formen erinnernde Elemente, die sich nach der Methode von Gram oder Sanfelice violett färbten. Aber die Kulturen auf verschiedenen Nährböden blieben steril, und zwei mit diesem Materiale peritoneal und subkutan geimpfte Meerschweinchen boten keine Anzeichen irgendwelcher Infektion.

Der Patient blieb lange Zeit in Behandlung, und zwar nahm er innerlich Jodkalium. Die beschriebenen Symptome und Störungen verschwanden nur sehr langsam, so daß beim Austritte des Kranken aus dem Hospitale nach einigen Monaten immer noch Spuren zurückblieben. Ueber sein weiteres Befinden haben wir keine Nachrichten mehr.

Der fünfte Fall, von dem wir die von Dr. Seng gütigst hergestellte Photographie wiedergeben, betrifft einen Kolonisten österreichischer Nationalität. Es handelte sich um einen jungen Mann von 28 Jahren, der keine Anzeichen von frischer oder abgelaufener Syphilis noch andere Symptome einer erblichen oder augenblicklichen Krankheit zeigte. Die inneren Organe und das Allgemeinbefinden waren in Ordnung. Er war angeblich eines Tages mehrmals von sehr vielen Insekten gestochen worden und hatte danach an verschiedenen Stellen seiner linken oberen Extremität zahlreiche kleine Knoten auftreten sehen, die nach 1 Monate oder etwas später zur Ulceration gekommen waren. Zahlreiche Ulcera zeigten zackige und infiltrierte Ränder und hatten einen granulierten Grund. Sie waren nicht schmerzhaft. Man bemerkte auch hier und dort einige Knotenbildungen auf der gesunden Haut, die wie die Ulcera schmerzlos waren. Die allgemeine Sensibilität zeigte keine Störung. Die Achsellymphdrüsen waren nicht vergrößert. Der Patient wurde nach weniger als 2 Monaten nach Anwendung von Sublimatumschlägen äußerlich und Jodkalium innerlich geheilt. Bei der mikroskopischen Untersuchung des antiseptisch vom Grunde der Ulcera und aus den Hautknötchen entnommenen Materials fand man keine Mikroorganismen.

Die spontane Krankheit der Ratten, die man sehr oft sowohl bei dem gewöhnlichen Mus decumanus als auch bei den weißen im Laboratorium gezogenen findet, tritt fast immer mit den gleichen Eigenschaften auf. Die ersten Veränderungen, welche die Aufmerksamkeit des Beobachters auf sich ziehen, sind, wie gesagt, charakteristische Geschwulstbildungen an einem oder mehreren Gliedern, die an die Gelenktuberkulose des Menschen erinnern; man bemerkt nämlich ein diffuses Oedem in der Tarsalgegend, oft mit Bildung von Fisteln, aus denen sich eine käsige Substanz entleert. Auch der Schwanz zeigt sich oft verändert, d. h. er ist mit Knötchen und Ulcerationen bedeckt. Andere kleinere Ulcera, die wie mit dem Locheisen ausgeschlagen aussehen, zeigen sich oft auf der Dorsalseite der Füße, besonders an der Ansatzstelle der Zehen. Bei der Autopsie findet man meistens die Lymphdrüsen angeschwollen und einige von ihnen käsig verändert. Die Leber ist manchmal mit einigen wenigen harten schmutzig weißen bis zu Stecknadelkopf-großen Knötchen bedeckt. Die Milz ist meistens vergrößert und hyperämisch; in den Lungen finden sich kleine Abscesse. Im allgemeinen aber sind die Veränderungen der inneren Organe spärlich, während sie dagegen, wie wir sehen werden, bei der experimentellen Infektion in sehr großer Anzahl vorhanden sind. Nimmt man eine

mikroskopische Untersuchung des aus den äußeren Veränderungen stammenden Eiters vor, so erkennt man einige mit anderen Mikroorganismen vermischte Torula-Formen; untersucht man dagegen das aus den Lymphdrüsen oder den Knötchen der inneren Organe herrührende Material, so finden sich jene meistens in reinem Zustande. Zur Feststellung dieser Torula-Formen im frischen Präparate hat sich uns am besten die Anwendung einer wässerigen Lösung von Aetzkali oder Aetznatron oder Neutralrot bewährt. Die beiden ersten Substanzen machen den Mikroorganismus durch Zerstörung der anderen zelligen Elemente, die letztere Substanz dadurch sichtbar, daß sie in wenigen Minuten die in den Torula-Formen enthaltenen Granula färbt und so dieselben leicht kenntlich macht. Diese haben ein hyalines Aussehen, sind manchmal doppelt konturiert, rund oder rundlich, andere wieder sind oval und ziemlich länglich, meistens sind sie isoliert, aber oft in Zahl von 2—5 zu Ketten vereinigt. Manche Formen zeigen Knospenbildung; fast alle sind mit einer mehr oder weniger großen Vakuole und mit verschiedenen glänzenden Granulis versehen. Die Größe jeder Form schwankt von 3 bis 7—8 μ. Die Färbung des Mikroorganismus gelingt, kann man sagen, mit allen für Bakterien gebräuchlichen Verfahren, einschließlich der Gramschen Methode, aber keine dieser Methoden bietet für das Studium des Mikroorganismus mehr Vorteile als die Untersuchung im frischen Präparate.

Kulturen.

Die Entwickelung des Mikroorganismus vollzieht sich in allen gewöhnlichen Nährböden; sie geht jedoch besser in den traubenzuckerhaltigen Medien unter aëroben Verhältnissen vor sich, während unter anaërobischen Bedingungen die Entwickelung sehr kümmerlich und unvollkommen ist. Das Temperaturoptimum beträgt 28° C, aber der Mikroorganismus gedeiht auch üppig in der Temperatur der Umgebung und im Brutschranke bei 37° C; sehr hohe Temperaturen sind nicht sehr geeignet. Da wir in verschiedenen Versuchen seine starke Widerstandsfähigkeit Säuren gegenüber festgestellt hatten, so benutzten wir diese Eigenschaft gleich von vornherein zur Herstellung von Reinkulturen. Wir sahen den Mikroorganismus sehr gut in mit Weinsteinsäure bis zu $^{1}/_{2}$ Proz. angesäuerten traubenzuckerhaltigen Nährböden wachsen. Ein von uns vorgezogenes Nährmedium hat als Grundlage Secale cornutum. Wir machen ein Infus dieser Substanz zu 10—20 pro Mille, und zwar lassen wir destilliertes Wasser bei einer Temperatur von 60° C eine Viertelstunde lang einwirken; aus dem Filtrat dieses Infuses präparieren wir nach den üblichen Regeln die flüssigen oder festen Nährböden, denen wir 2 Proz. Traubenzucker zusetzen und die wir mit Weinsteinsäurelösung zu 1—2–3 pro Mille ansäuern. Um feste Nährböden zu erhalten, fügen wir Gelatine zu 20 oder Agar zu 3 Proz. hinzu. In diesen Nährböden ist die Entwickelung unseres Mikroorganismus immer konstant gewesen, wenn wir das aus den pathologischen Veränderungen des Tieres direkt herrührende Material ausgesät haben. Die ersten Kolonieen erscheinen von runder Form, glattem, feuchtem Aussehen, mit perlgrauem Glanze, und die Elemente, welche mit einer homogenen Immersion untersucht worden sind, zeigen sich immer in Torula-Form, sehen hyalin aus, sind mehr oder weniger rundlich, 5—6 μ groß und lassen eine Vakuole und glänzende Granula in ihrem Innern erkennen.

Wir wollen hier die weitere Entwickelung wiedergeben, wie sie sich

bei Ueberimpfungen dieser Kolonieen auf die verschiedenen Nährböden darstellt.

Bei einer Strichkultur auf gewöhnlicher Gelatine treten erst nach dem 3. Tage ganz kleine, kaum bemerkbare Punkte auf. Diese haben eine schmutzig-weiße Farbe und ein feuchtes Aussehen. Unter dem Mikroskop erscheinen sie bei 50-facher Vergrößerung als runde, kleine Kolonieen mit glatten Rändern und einem fein granulierten Inhalte, dessen Bestandteile sich bei geeigneter Vergrößerung als mehr oder weniger runde Torula-Formen erweisen; sie haben ein hyalines Aussehen, enthalten eine große Vakuole und 2 oder 3 glänzende außerhalb der Vakuole liegende Granula und haben eine Größe von 3—6 μ. Unter Beibehaltung ihres Aussehens erreichen die Kolonieen am 8. Tage eine Größe von $^1/_3$ mm, am 12. werden sie bis zu 1 mm und darüber groß und beginnen ihr Aussehen zu ändern; sie verlieren ihre Klarheit und werden weißlich, rissig und dann flockig. In diesem Stadium zeigt die geeignete mikroskopische Vergrößerung die Torula-Elemente im Zustande der Keimung, wobei einige vollkommen in hyaline Fäden von verschiedener Länge umgewandelt sind, welche seitliche Verzweigungen und Querteilungen mit Vakuolen und glänzenden Granulis in jedem Segmente zeigen. Die Breite dieser Segmente beträgt 2—4 μ, die Länge bis zu 7—8 μ.

Gegen den 20. Tag sind fast alle Kolonieen flockig geworden und man kann dann sehen, daß ihre Bestandteile, die bereits in Fäden umgewandelt sind, schon eine ziemlich große Zahl von ovalen oder birnförmigen, vereinzelt liegenden Körperchen von hyalinem Aussehen zu zeigen beginnen, welche zur Seite der Hyphen liegen; diese Körper sind 3—4 μ lang und 1,5—2 μ breit und besitzen eine Vakuole und 2 glänzende Granula.

In der Folgezeit beginnen die Kolonieen in ihrem Zentrum eine dunkle Farbe anzunehmen; diese Färbung breitet sich allmählich nach der Peripherie zu aus. Nach einem Monat ist die ganze Kultur schon umgewandelt und zeigt auf der Oberfläche eine schwarze Farbe und ein rissiges Aussehen. In diesem Stadium zeigt die mikroskopische Beobachtung eine große Zahl von schwarzen Sporen, die herabgefallen sind oder an den ganz zarten Hyphen hängen. Man kann jetzt beobachten, daß die Hyphen kaum 1 μ und die rundlichen oder ovalen Sporen 2 oder 3 μ breit sind, daß ferner die Peripherie eine dunkle Farbe zeigt und ziemlich dicht, während der Inhalt hyalin ist und ein leicht dunkel gefärbtes Granulum in der Mitte enthält. Diese Sporen liegen oft vereinzelt, aber man trifft nicht selten eine sehr große Zahl, die um die Hyphenverzweigungen herum aufgehäuft sind. Diese Entwickelung ist übrigens nicht konstant, denn sehr oft fehlt das erste Stadium; in der Tat beginnt manchmal die Entwickelung der Kolonieen direkt mit der flockigen Form. In diesen Fällen beginnen 3 oder 4 Tage nach der Aussaat auf der Strichlinie ganz kleine weiße unregelmäßige Flocken aufzutreten, die das Aussehen von Wattestückchen haben, die auf der rauhen Oberfläche eines Tuches haften geblieben sind; aus diesem Stadium, dessen Entwickelung ziemlich langsam vor sich geht, geht die Kultur nach 20 oder 30 Tagen und manchmal auch noch nach längerer Zeit eine weitere Umwandlung mit der oben beschriebenen schwärzlichen Färbung ein.

Bei der Stichkultur beginnen nach 3 oder 4 Tagen längs der von der infizierten Nadel durchlaufenen Strecke ganz kleine, weißliche, kaum

sichtbare Punkte aufzutreten, und zwar besonders gegen den oberen Teil der Gelatine hin. Am 5. Tage werden sie schon ganz deutlich und am 12. beginnt die ganze Infektionslinie ganz feine seitliche Fäden zu zeigen, welche allmählich immer zahlreicher werden und zwar besonders gegen den oberen Teil hin. Am 14. Tage beginnt die äußere Oberfläche des Stichkanales kleine weiße Flocken zu zeigen, die zu einem Schopfe vereinigt sind; um den 20. Tag herum macht sich eine dunkle Färbung im Zentrum derselben bemerkbar.

Da das mikroskopische Aussehen der Elemente der Kolonieen in verschiedenen Entwickelungsstadien auf den verschiedenen Nährböden mehr oder weniger ähnlich ist, so glauben wir der Kürze halber auf eine Wiederholung der Schilderung des mikroskopischen Befundes bei jeder Kultur verzichten zu können; denn die kleinen Differenzen zwischen zwei Nährböden kann man unberücksichtigt lassen, da sie sich meistens nur auf die Größenverhältnisse der Elemente beziehen, während der Typus je nach dem verschiedenen Entwickelungsstadium konstant ist.

Gewöhnliche Gelatine mit 2 Proz. Traubenzucker, Reaktion leicht alkalisch; Strichkultur. Nach 2 Tagen treten ganz spärliche punktförmige weißliche, feuchte, kaum sichtbare Kolonieen auf, die bei der Beobachtung mit einer gewissen Vergrößerung glatte Ränder und einen granulierten Inhalt zeigen. Diese Kolonieen sind am 8. Tage ungefähr 1 mm groß; in diesem Zustande beginnen sie ihre Durchsichtigkeit zu verlieren, werden opak und bekommen unregelmäßige und ausgezackte Ränder. Darauf beginnen kleine seitliche Fäden aufzutauchen, so daß sie ein sternförmiges Aussehen annehmen; am 15. Tage haben sie sich zu weißlichen Flocken umgewandelt, bei welchen am 20. Tage eine Schwarzfärbung im Zentrum aufzutreten beginnt, die am Ende des 30. Tages fast allgemein wird.

Bei der Stichkultur wiederholt sich im großen und ganzen dieselbe Entwickelung wie bei der gewöhnlichen Gelatine, nur daß das Auftreten der Seitenfäden der Hauptwurzel rascher und reichlicher stattfindet, als an der freien Oberfläche, wo die Schwärzung schon am 15. Tage beginnt.

Gelatine mit Secale cornutum und 2 Proz. Traubenzucker, Reaktion leicht alkalisch. Man erhält im großen und ganzen dasselbe Resultat wie im vorhergehenden Falle. Wird dasselbe Medium mit Weinsteinsäure zu 1 pro Mille angesäuert, so geht die Entwickelung rascher vor sich und die Schwarzfärbung der Kolonieen tritt nach wenig mehr als 20 Tagen auf.

Bei den Gelatinekulturen, besonders bei den mit Secale cornutum und angesäuertem Traubenzucker angestellten, tritt eine starke Verflüssigung des Nährmediums ein, welche einige Tage nach dem Schwarzwerden der Kolonieen beginnt.

Gewöhnlicher alkalischer Agar. Strichkultur bei Laboratoriumstemperatur. Nach 2 Tagen treten punktförmige, kaum sichtbare, runde weißliche Kolonieen auf, von denen einige bei 50-facher Vergrößerung gerade, andere ausgezackte Ränder, alle aber einen granulierten Inhalt zeigen. Am 8. Tage erreichen einige größere die Größe von 1 mm; an der Peripherie beginnen jetzt die Granula weniger dicht zu werden. In den folgenden Tagen wird das äußere, sonst feuchte und klare Aussehen allmählich trocken und opak, am 15. Tage beginnen sie sich an der Peripherie mit zahlreichen Strahlen zu umgeben und nach

dem 20. Tage tritt eine Dunkelfärbung im Zentrum auf; diese verbreitet sich immer weiter, bis schließlich die ganze Oberfläche schwarz aussieht, was bei einigen Kulturen nach mehr als einem Monat, bei anderen viel später eintritt.

Bei der Stichkultur beginnt die Entwickelung schon nach 24 Stunden mit Pünktchen in Form von schmutzig-weißen kaum sichtbaren Granulis längs der Impflinie, indem die Zahl und Größe in den folgenden Tagen sehr langsam zunimmt.

Am 8. Tage beginnt auf der freien Oberfläche der Hauptwurzel eine kleine wachsartige Masse zu erscheinen und am 10. Tage verschiedene Seitenfäden quer die Hauptwurzel zu umgeben, welche am 14. Tage das Aussehen einer Reagenzglasbürste annimmt. Zu dieser Zeit zeigt die äußere wachsartige Oberfläche, die sich schon weiter ausgebreitet hat, zahlreiche weiße erhabene Flöckchen und am 20. Tage den Anfang einer Schwarzfärbung, die nach einem Monat fast vollkommen wird.

Bei der Brutofentemperatur von 37° gehen diese Umwandlungen langsamer vor sich und die Hauptwurzel entwickelt sich weniger stark und ist weniger reich an seitlichen Verzweigungen. Bei 28° dagegen entwickeln sich die Kolonieen spärlich, aber die Schwarzfärbung beginnt vor dem 15. Tage.

Gewöhnlicher Agar mit 2 Proz. Traubenzucker, Reaktion leicht alkalisch; Strichkultur bei der Temperatur der Umgebung. Schon nach 24 Stunden erhält man zahlreiche einzelstehende, punktförmige, runde oder rundliche Kolonieen von schmutzig weißer Farbe mit glatten Rändern, granuliertem Inhalt und feuchtglänzender Oberfläche. In wenigen Tagen erreichen sie eine Größe von 1 mm und nach einer Woche überschreiten einige Kolonieen die Größe von 2 mm, wobei besonders jene vom oberen Teile des Nährbodens ein opakes, trockenes und infolge des Auftretens von Seitenfäden in Strahlenform sternförmiges Aussehen zeigen. Dieses Aussehen nehmen allmählich alle Kolonieen an, so daß sie am 17. Tage fast alle flockig und trocken sind; außerdem beginnen sie jetzt eine Dunkelfärbung im Zentrum zu zeigen.

Im Brutofen bei 37° treten nach 24 Stunden zahlreiche kleine punktförmige, weißliche, glatte Kolonieen, mit perlgrauem Glanze, graden Umrissen und granuliertem Inhalte auf, während man am 4. Tage mitten unter derartigen Kolonieen hier und dort auf der Oberfläche des Nährbodens zerstreut andere kleine Kolonieen von rissigem Aussehen mit in gleicher Weise granuliertem Inhalte und mit gezackten Rändern erscheinen sieht. Am 13. Tage zeigen alle Kolonieen ein weißes, opakes Aussehen mit beginnender Flockenbildung, die täglich zunimmt; am 25. Tage beginnt die gewöhnliche Dunkelfärbung.

Im Brutofen bei 28° entwickeln sich die Kolonieen üppiger; man beobachtet hier nach 2 oder 3 Tagen runde, feuchte, glatte, glänzende Kolonieen, die bis zu 3 und mehr Millimeter groß sind. Die Umwandlung in rissige und flockige Kolonieen findet in weniger als 1 Woche statt; hierauf tritt rasch eine allgemeine Schwarzfärbung ein.

2-proz. Glycerinagar. Fast dieselbe Entwickelung wie in Traubenzuckeragar.

Leicht saurer Malzagar. Bei der Temperatur der Umgebung erhält man im großen und ganzen dieselben Resultate wie mit Traubenzuckeragar, nur sind die Kolonieen im allgemeinen etwas kleiner. Im Brutofen bei 37° tritt längst des Impfstriches vom 2. Tage ab ein kleiner

weißlicher Belag auf, der am folgenden Tage kaum zu sehen ist; es erscheinen auch kleine vereinzelte punktförmige Kolonieen, von denen einige bei einer gewissen Vergrößerung das gewöhnliche granulierte Aussehen mit glatten und runden, andere mit ausgezackten und fadenförmigen Umrissen zeigen; die ersten sind feuchtglänzend, die anderen trocken und opak.

Manchmal tritt bei einigen Kulturen nach wenig mehr als einer Woche auf dem Belage eine allgemeine Runzelbildung auf, die lange Zeit bestehen bleibt, während bei den vereinzelt stehenden Kolonieen einige rissig und strahlenförmig, andere nach ungefähr einem Monat ebenfalls runzelig werden und ein unregelmäßiges Aussehen zeigen. Die Schwarzfärbung beginnt nach ungefähr 35 Tagen. Im Brutofen bei 28° zeigen die Kolonieen, die sich schon nach 24 Stunden punktförmig und zahlreich entwickelt haben, nach Durchschreitung der verschiedenen Entwickelungsstadien die Schwarzfärbung am Ende der 1. Woche.

Agar mit Secale cornutum und 2 Proz. Traubenzucker. Bei verschiedenen Temperaturen erhält man mehr oder weniger dieselbe Entwickelung wie auf Traubenzuckeragar, wobei indessen die Entwickelung, besonders auf einem Nährboden mit neutraler oder leicht saurer Reaktion, rascher vor sich geht. Die Schwarzfärbung tritt bei der Temperatur der Umgebung in weniger als 20, im Brutofen bei 37° in 25—30 Tagen und bei 28° in einer Woche ein.

Röhrchen mit gekochtem Ei. Strichkultur bei der Temperatur der Umgebung. Nach 2 Tagen erscheinen zahlreiche punktförmige, wenig erhabene, meist isolierte, manchmal aber zusammenfließende Kolonieen; sie gleichen ganz feinen Tautröpfchen. Ihre Farbe ist weißlich. Bei 50-facher Vergrößerung zeigen sie eine runde oder rundliche Form, einen granulierten Inhalt und gewöhnlich glatte, manchmal aber auch ausgezackte Ränder. Auf der Oberfläche des Nährbodens trifft man auch verzweigte Fäden, die von den obengenannten Kolonieen isoliert liegen. Am 8. Tage erreichen einige die Ausdehnung von 1 mm und mehr und diejenigen, die im oberen (trockeneren) Teile des Nährbodens entstanden sind, nehmen ein kalkiges, weißliches Aussehen an und manche zeigen in ihrem zentralen Teile schon eine schwärzliche Färbung. Am 14. Tage verallgemeinert sich dieses Aussehen und einige isolierte Kolonieen zeigen sich etwas gerunzelt und haben ein schwärzliches Zentrum und eine weiße trockene Peripherie.

Im Brutofen bei 37° zeigen sich nach 40 Stunden zahlreiche undeutliche, punktförmige, meistens isolierte, manchmal zusammenfließende Kolonieen, von leuchtendem, opakem Aussehen. Am 3. Tage hat sich ihre Zahl und ihr Volumen schon etwas vermehrt, so daß einige die Ausdehnung von ungefähr 1 mm erreichen. Am 10. Tage zeigen sich die Kolonieen des trockeneren Teiles des Nährbodens strahlenförmig, weißlich, rissig und trocken. Am 20. Tage beginnt die zentrale Schwarzfärbung aufzutreten.

(Schluß folgt.)

Quelques recherches expérimentales sur la vaccine et la clavelée chez Mus rattus.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 2 figures.

Après mes recherches expérimentales sur la rage des rats[1]) je me suis proposé de vérifier la façon de se comporter de Mus rattus vis à vis de quelqnes autres infections. Ce rongeur, en effet, peut avoir une importance non seulement comme colporteur de certaines maladies, mais aussi comme animal d'expérience pour les laboratoires, car, grâce à l'appareil que j'ai fait construire[2]), il est possible de le fixer et de le soumettre aux inoculations avec la plus grande facilité. Or, comme il s'agit d'un rongeur qui dans certaines localités, Lausanne par exemple, est facile à se procurer, et qu'on garde en captivité pendant des mois, il peut rendre d'utiles services aux expérimentateurs.

Toutes les recherches que j'ai faites dans la littérature pour trouver quelques indications sur la façon de se comporter du rat vis à vis des infections vaccino-varioleuses, m'ont démontré qu'il n'existe aucune publication à ce sujet.

Pour mes expériences, je me suis servi de la pulpe vaccinale de l'Institut vaccinogène de Lausanne, pulpe récoltée sur les veaux, obligeamment fournie par MM. Felix et Flück, directeurs de l'Institut, et d'un petit tube de claveau que je dois à l'obligeance de M. le vétérinaire Ducloux, chef du service de l'agriculture de la Tunisie.

Toutes les inoculations ont été pratiquées à la lancette à la cornée, et à la lancette où à la seringue de Pravaz à la peau précédemment rasée. Les cornées et les morceaux de peau, excisés après la mort de l'animal, étaient gardés dans l'alcool-sublimé, colorés par l'hématoxyline de Böhmer ou le carmin aluné et débités en coupes pour la recherche des corps de Guarnieri.

I. Expériences avec la pulpe vaccinale de Lausanne.

a) Pulpe vaccinale glycérinée No. 1747, récoltée le 3 octobre 1906.

Exp. I. Mus rattus No. 1. 30 X. 06. 11h matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées et à la peau du dos (2 incisions).

5. XI. Petite pustule blanchâtre à la C. d. Rien à gauche. Deux pustules allongées à aréole rouge au dos. 6. XI. C. d. ulcérée. Pustules du dos desséchées. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: C. d.: Présence des corps de Guarnieri peu nombreux et localisés à la lésion.

Exp. II: Mus rattus No. 2. 30 X. 06. 11h matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées, par raclage à la peau du dos. 2 XI. 06. Petite pustule comme pointe d'épingle à la C. g. Rien à la peau du dos.

1) Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. p. 197. et Bd. XLII. 1906. p. 203.

2) Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. p. 197.

3 XI. Ulcération de la C. g., à la C. d. 2 petites pustules blanchâtres comme pointe d'épingle. Plaque rougeâtre sèche à la peau du dos. 5 XI. C. d. ulcérée. 6 XI. Plaque du dos couverte de croûtes jaunâtres. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri assez nombreux dans les lésions des deux cornées.

Exp. III: Mus rattus No. 3. 6 XI. 06. $10^{3}/_{4}$ matin. Inoculé par scarification aux deux cornées et à la peau du dos (incisions quadrillées). 7 XI. Mort sans présenter de lésions visibles.

Examen microscopique: Point de corps de Guarnieri dans les coupes des deux cornées.

Exp. IV: Mus rattus No. 4. 6 XI. 06, 11^{h} matin. Inoculé comme le No. 3. 9 XI. Une petite pustule blanchâtre à chaque cornée. Rien à la peau du dos. 10 XI. Pustules aux cornées, un peu plus grandes. Lésions cutanées desséchées. 12 XI. Oeil droit larmoyant avec quelques petites pustules à la cornée. C. g. avec 2 petites pustules et une petite érosion. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des deux cornées.

Exp. V: Mus rattus No. 5. 13 XI. 06. $10^{1}/_{4}{}^{h}$ matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées et à la peau du dos (1 incision). 15 XI. Petite pustule blanche à la cornée g. 17 XI. Idem à la C. d. 19 XI. C. d. ulcérée. Lésions cutanées desséchées. 20 XI. C. g. ulcérée. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des deux cornées.

b) Pulpe vaccinale glycérinée No. 1759, récoltée le 15 octobre 1906.

Exp. VI: Mus rattus No. 6. 22 XI. 06. 10^{h} matin. Inoculé par scarification aux deux cornées et à la peau du dos (2 incisions). 25 XI. Début pustulation aux 2 cornées. Lésions cutanées desséchées. 26 XI. Les deux cornées sont ulcérées. L'animal meurt le soir (infection à Trichomonas muris)[1]).

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des deux cornées.

Exp. VII: Mus rattus No. 7. 22 XI. 06. $10^{1}/_{4}$ h matin. Inoculé comme le No. 6. Présente aussi les mêmes lésions. 26 XI. Tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des deux cornées.

c) Raclage de la cornée droite de Mus rattus No. 7.

Exp. VIII: Mus rattus No. 8. 26 XI. 06. 10^{h} matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées. 30 XI. Petites pustules aux 2 cornées. 1 XII. Les deux cornées sont ulcérées. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des 2 cornées.

---

1) Centralbl. f. Bakt etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. p. 523. Dans ce travail T. muris est dessiné avec un grossissement de 1000 et non de 100, comme il est indiqué par une faute d'impression.

d) Raclage de la cornée droite de M. rattus No. 8.

Exp. IX: Mus rattus No. 9. 1 XII. 06. 9h 10 matin. Inoculé par scarification à la cornée droite. 4 XII. Petite pustule à la C. d. 10 XII. C. d. ulcérée. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: C. d.: Corps de Guarnieri dans la lésion.

e) Pulpe vaccinale glycérinée No. 1759, récoltée le 15 octobre 1906 et gardée à la température de la chambre (18° à 20°) depuis le 22. XI 06.

Exp. X: Mus rattus No. 10. 10 XII. 06. 11h matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées et à la peau du dos (3 incisions). 13 XII. Yeux larmoyants. Lésions cutanées desséchées. 14 XII. Petit ulcère à la C. d. C. g.: pas de lésions. 15 I 07. Réinoculé par scarification aux 2 cornées et par inoculation sous-cutanée de la pulpe vaccinale délayée en bouillon (2/10 de cc.) au dos. 22 I. Il n'a rien présenté et on le tue au chloroforme.

Examen microscopique: Dans le raclage de l'ulcère à la cornée droite pratiqué le 14 XII., il y a des corps de Guarnieri. Dans les coupes des cornées enlevées le 22 I. 06, il n'y en a point.

Exp. XI: Mus rattus No. 11. 10 XII. 06. 11¼h matin. Inoculation par scarification aux 2 cornées et à la peau du dos (3 incisions). 13 XII. Petites pustules aux 2 cornées. Lésions cutanées desséchées. 14 XII. Ulcères des 2 cornées. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des 2 cornées.

Exp. XII: Mus rattus No. 12. 15 I. 07. 10h du matin. Inoculé par scarification aux deux cornées, et par inoculation sous-cutanée au dos (²/₁₀ de cc. de pulpe délayée en bouillon). 21 I. 07. Trouble de la C. d. sans pustules. C. g. et peau, rien. 22 I. 07. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Point de corps de Guarnieri dans les coupes des 2 cornées.

f) Pulpe vaccinale glycérinée No. 1717, récoltée le 13 juillet 1906.

Ce vaccin, nonobstant son âge, donne sur le veau de très belles pustules.

Exp. XIII: Mus rattus No. 13. 22 I. 07. 11h matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées et par inoculation sous-cutanée au dos (²/₁₀ cc. vaccine délayée dans de l'eau stérilisée). Cet animal n'a rien présenté. Il est tué au chloroforme le 4 II.

Examen microscopique: Point de corps de Guarnieri dans les coupes des 2 cornées.

Exp. XIV: Mus rattus No. 14. 22 I. 07. 11½h matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées. 25 I. Oeil droit larmoyant, petit pustule à la C. g. 27 I. C. d.: rien. C. g.: petit ulcère. 28 I. L'animal est mort la nuit du 27 au 28. (Infection à T. muris.)

Examen microscopique: C. d,: Corps de Guarnieri très rares. C. g.: Point de corps de Guarnieri.

g) Pulpe vaccinale non glycérinée No. 1781, récoltée le 4 février 07, matin.

Exp. XV: Mus rattus No. 15. 4 II. 07. $5^1/_4$ soir. Inoculé par scarification aux deux cornées et à la peau du dos (2 incisions). 8 II. Petites pustules aux cornées. Rien à la peau. 9 II. Mort (infection à T. muris).

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des 2 cornées.

Exp. XVI: Mus rattus No. 16. 4 II. 07. $5^1/_2$ soir. Inoculé comme le précédent (No. 15). 7 II. Pustules aux 2 cornées. Rien à la peau. 8 II. Ulcères des 2 cornées. 9 II. Les ulcères sont beaucoup plus étendus. Tué au chloroforme.

Examen microscopique: Nombreux corps de Guarnieri dans les lésions des 2 cornées.

h) Pulpe vaccinale non glycérinée No. 1781, récoltée le 4 février 07, matin.

Cette pulpe délayée dans de la solution physiologique stérile (2:20) est triturée dans un mortier d'agate le 4 février. Cette émulsion est placée dans une armoire à circulation d'eau froide jusqu'au 9 II. et vivement agitée tous les jours. Le 9 II. l'émulsion est filtrée sur papier filtre et le liquide, passé à travers le filtre, est de nouveau filtré par aspiration sur une petite bougie Silberschmidt. Le liquide filtré controlé par les cultures, a laissé les milieux stériles.

Exp. XVII: Mus rattus No. 17. 9 II. 07. 10^h matin. Inoculé par scarification avec le matériel resté sur la bougie Silberschmidt aux 2 cornées. 12 II. C. d.: deux petites pustules. C. g.: une petite pustule. 16 II. Les lésions sont toujours dans le même état. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri dans les lésions des 2 cornées.

Exp. XVIII: Mus rattus No. 18. 9 II. 07. $10^1/_4{}^h$ matin. Inoculé avec le liquide passé à travers la bougie Silberschmidt, aux 2 cornées. 21 II. C. d.: rien. C. g.: très petite pustule. 22 II. Idem. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: Corps de Guarnieri très rares dans les lésions de la C. g.

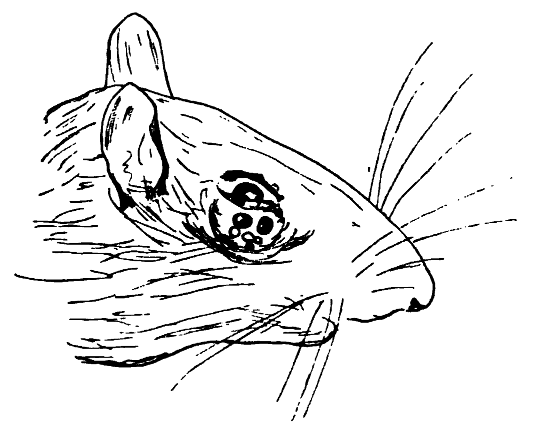
II. Expériences avec le claveau de Tunisie.

Exp. I: Mus rattus No. 1. 17 IV. 07. 10^h matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées et à la peau du dos (2 incisions). 20 IV. 07. C. g.: 2 petits points blancs. C. d.: rien. Lésions à la peau desséchées. 1. V. C. g.: petit ulcère.

Examen microscopique: Dans le raclage de l'ulcère on ne remarque rien de particulier.

Exp. II: Mus rattus No. 2. 17 IV. 07. $10^1/_4{}^h$ matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées et à la peau en dessous des paupières inférieures. 20 IV. C. d.: petite pustule blanchâtre. Sous la paupière inférieure droite 5 petites pustules jaunâtres bombées (fig. I). Rien à la cornée et à la paupière gauche. 26 IV. L'animal est mort dans la matinée. (Infection à T. muris.)

Examen microscopique: C. d.: rares corpuscules analogues aux corps de Guarnieri[1]. Dans le pus des pustules sous la paupière droite, point de bactéries, ni par l'examen direct ni par les cultures. Dans les préparations colorées par l'hématoxyline on trouve des corpuscules ronds ou ovoïdes de μ 2 à 8, isolés ou groupés ensemble, presque tous extracellulaires.


Fig. I.

Exp. III: Mus rattus No. 3. 26 III. 07. 10h matin. Inoculé par scarification à la cornée droite, à la peau en dessous de la paupière inférieure gauche et à la peau du dos (2 incisions), avec le matériel contenu dans les pustules en dessous la paupière droite du rat No. 2. 1. V. C. d.: 2 petites pustules blanchâtres de la dimension d'un pointe d'épingle. Aucune autre lésion. 6 V. L'animal est tué au chloroforme.

Examen microscopique: C. d.: Très rares corpuscules analogues aux corps de Guarnieri.

Exp. IV: Mus rattus No. 4. 26 IV. 07. 10¼h matin. Inoculé comme le précédent (No. 3). 1 V. C. d.: 2 petites pustules de la dimension d'une pointe d'épingle. 3 V. Petite pustule jaunâtre bombée à la peau en dessous de la paupière inférieure gauche.

Examen microscopique: C. d.: Rares corpuscules analogues aux corps de Guarnieri. Dans le pus mêmes corpuscules que chez le rat No. 2.

Exp. V: Mus rattus No. 5. 3 V. 07. 11h matin. Inoculé par scarification aux deux cornées, avec le contenu de la pustule sous la paupière du rat No. 4. 8 V. C. d.: petite pustule. 13 V. C. d.: petit ulcère. L'animal meurt. (Infection à T. muris.)

Examen microscopique: C. d. Point de corpuscules dans la lésion.

III. Expériences avec vaccin de Lausanne et claveau de Tunisie.

Exp. I: Mus rattus No. 1. (Déjà inoculé avec le claveau, Exp. I.) 3 V. 07. Inoculé par scarification aux 2 cornéés et à la peau du dos (2 incisions) avec pulpe glycérinée du 27 III. 07. 17 V. L'animal meurt (infection à T. muris) sans avoir présenté aucune lésion.

Examen microscopique: Points de corps de Guarnieri dans les coupes des 2 cornées.

Exp. II: Lapin No. 2. 17 IV. 07. 11h matin. Inoculé par scarification aux 2 cornées et à la peau du dos (2 incisions) avec le claveau de Tunisie. 1 V. C. d.: petite pustule conique. 3 V. La pustule a disparu. 3 V. Inoculé par scarification aux 2 cornées et à la peau du dos

[1] Bosc (Archives de méd. expér. Vol. XIII. 1901, p. 253), inoculant le claveau à la cornée du mouton, a déjà noté ces corpuscules.

avec la pulpe vaccinale glycérinée du 27 III. 07. 7 V. Trouble des 2 cornées. Rien à la peau. 11 V. Forte irritation des cornées au point inoculé. 13 V. Forte kératite sans formation de vraies pustules. L'animal guérit.

Examen microscopique: Dans le raclage des 2 cornées du 13 V., il y a beaucoup de corps de Guarnieri.

Les expériences que je viens d'exposer démontrent:

1⁰ Qu'avec la pulpe vaccinale glycérinée ou non, il est possible de déterminer chez Mus rattus, par inoculation à la cornée, la formation de petites pustules blanchâtres qui se manifestent 2—3 jours après l'inoculation et qui ont la tendance à s'ulcérer, pustules tout à fait analogues à celles qu'on détermine chez le lapin avec la vaccine et la variole. Si

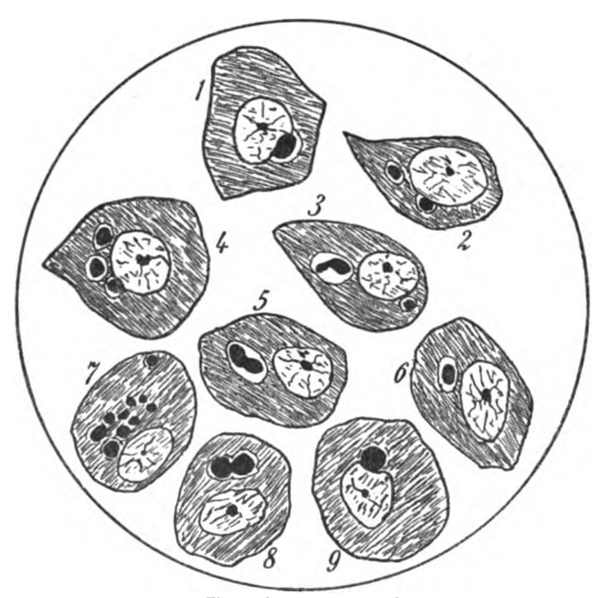


Fig. II. Gross. 820.

la pulpe vaccinale est trop ancienne (Exp. XIII et XIV), Mus rattus ne réagit pas ou presque pas à l'inoculation, bien que cette pulpe donne encore de très bons résultats sur le veau.

Les résultats sont aussi incertains (Exp. X et XII) avec une pulpe vaccinale gardée un certain temps à 18⁰—20⁰. Les inoculations par scarification à la peau ou les inoculations sous-cutanées ne donnent pas de résultats chez Mus rattus. Si parfois on observe un début de pustulation, la pustule sèche immédiatement. Dans les lésions déterminées avec le vaccin à la cornée de Mus rattus, on trouve, localisés à la lésion, des corps de Guarnieri dans les cellules épithéliales, parfois pénétrant en partie dans les noyaux, isolés ou par 2, arrondis ou ovoïdes, de 2—5 μ, entourés d'une aréole claire, tout-à-fait identiques aux corps de Guarnieri qu'on détermine par inoculation vaccinale à la cornée du lapin (Fig. II, 1, 2, 3, 4, 5, 6).

2⁰ Qu'avec le raclage des pustules des rats inoculés avec la vaccine, il est possible de déterminer la formation de pustules analogues à la

cornée d'autres rats, pustules présentant aussi des corps de Guarnieri.

3° Que l'inoculation de la pulpe vaccinale filtrée sur bougie de Silberschmidt, à la cornée d'un Mus rattus n'a donné qu'une toute petite pustule à une des cornées, avec de très rares corps de Guarnieri, et cette pustule n'est apparue qu'après un délai de 12 jours, chose qui peut faire admettre que dans le cas particulier (filtration sur bougie Silberschmidt par aspiration) il n'y a qu'un élément (spore?) du parasite qui a passé et qui a eu besoin a un long développement avant de donner lieu à la lésion.

4° Que l'inoculation du claveau à la cornée de Mus rattus donne des lésions moins nettes que celles déterminées par la vaccine, lésions dans lesquelles on peut voir des corpuscules arrondis ou ovoïdes de 2–5—6 μ, intracellulaires, très analogues aux corps de Guarnieri (fig. II, 8, 9). Par ci par là'on trouve des cellules gonflées contenant de nombreux corpuscules fortement colorés par l'hématoxyline ou par le carmin (fig. II, 7). Les inoculations par scarification à la peau du dos ne donnent rien, mais l'inoculation à la peau en dessous de la paupière inférieure a déterminé, dans le cas dans lequel elle a été pratiquée, la formation de petites pustules jaunâtres, bombées, contenant des corpuscules arrondis ou ovoïdes de 2 à 8 μ, se colorant fortement par l'hématoxyline. L'inoculation du contenu de ces pustules à la cornée et à la paupière d'autres rats a déterminé des lésions analogues à celles obtenus directement par l'inoculation du claveau.

5° Qu'un Mus rattus inoculé d'abord avec du claveau et après avec de la vaccine aux cornées n'a rien présenté à cette 2me inoculation, tandis qu'un lapin inoculé de la même façon (pustule de très clavelée douteuse!) a quand même présenté des pustules à la cornée. Ces expériences sur l'influence réciproque de la vaccine et du claveau sur la cornée de Mus rattus et du lapin, expériences que je n'ai pas pu continuer par manque de claveau, doivent être reprises par ceux qui se trouvent dans les zones où la clavelée domine. Jusqu'à maintenant en effet, des expériences sérieuses et bien conduites, sur le mode de se comporter vis à vis les uns des autres sur les différentes espèces animales, du claveau, vaccine et variole manquent complètement et leur importance au point de vue de l'étude du grand groupe des affections vaccino-varioleuses ne peut échapper à personne.

Le résultat pratique et plus immédiat de mes recherches, c'est que Mus rattus peut être utilisé à la place du lapin, pour le contrôle de la vaccine par inoculation à la cornée.

Lausanne, 28 octobre 1907.

Hymenolepis furcifera und Tatria biremis, zwei Tänien aus Podiceps nigricollis.

Von Dr. v. **Linstow** in Göttingen.

Mit 5 Figuren.

Etwa 16 km östlich von Göttingen liegt der Seeburger See, der reich ist an Wasservögeln; Podiceps auritus und Fulica atra leben hier in Mengen, ein seltener Gast ist Podiceps nigricollis und in einem Exemplar fand ich die beiden hier besprochenen Tänienarten.

Hymenolepis furcifera (Krabbe).

Krabbe beschrieb in seinem schönen Werk Bidrag til kundskab om fuglenes baendelorme, Kjøbenhavn 1869 123 Vogeltänien, größtenteils nach der äußeren Form und der Anzahl, Gestalt und Größe der Rostellumhaken; später wurde von anderen Forschern die Anatomie der Glieder untersucht, die Veranlassung gab, das Genus Taenia in mehr als 100 Gattungen aufzulösen; von den 123 von Krabbe beschriebenen Arten sind jetzt 76 in neue Genera untergebracht, die übrigen warten noch auf eine erneute Untersuchung, und zu diesen gehörte Taenia furcifera. Trotz seiner Unvollkommenheit ist das Werk Krabbes auch heute noch für die Systematik von hohem Wert, denn Anzahl, Größe und Form der Rostellumhaken, die in demselben in vorzüglicher Weise dargestellt sind, bleiben für die Artbestimmung immer sehr wichtig.

Krabbe beschreibt (l. c. p. 306, Tab. VII Fig. 176—178) die zuerst von ihm benannte Art, die er in Podiceps cristatus und P. rubricollis fand, als 280 mm lang und hinten 0,7 mm breit; die Gliederkette ist vorn haardünn; am Rostellum stehen 10 Haken von 0,026—0,028 mm Länge; die Geschlechtsöffnungen münden einseitig, der Cirrus ist 0,035 mm lang und 0,003 mm breit und die Haken der Oncosphäre messen 0,009; die Art wurde auf Seeland gefunden. Seitdem ist diese Art nicht wieder beschrieben worden.

Die Länge meiner Exemplare betrug nur bis 35 mm; wenn Krabbe eine viel beträchtlichere gefunden hat, so ist der Grund wohl der, daß die von mir gefundenen Tänien noch nicht ausgewachsen waren, denn in keiner fanden sich Eier in den letzten Proglottiden. Die Breite beträgt vorn 0,044 mm, hinten 0,48 mm, so daß Krabbe mit Recht sagt, der Körper sei vorn haardünn, denn die angegebene Breite entspricht genau der eines menschlichen Haupthaars. Alle Glieder sind sehr kurz; im vorderen Drittel der Kette erkennt man keine deutliche Gliederung; die ersten erkennbaren Proglottiden sind 0,019 mm lang, ganz hinten erreichen sie eine Länge von 0,026 mm und die Dicke verhält sich zur Breite wie 13:29. Das Hinterende ist abgerundet.

Die Gliederkette zeigt 3 dunkle Längsstreifen, von denen der innere am wenigsten auffällt. Der birnförmige Skolex ist 0,18 mm lang und 0,16 mm breit; die Saugnäpfe messen 0,065 mm; am Rostellum stehen 10 Haken von 0,026 mm Länge; der Wurzelast ist meistens an der Außenseite bauchig aufgetrieben.

Die Cuticula ist dick, unter ihr liegt eine feine Schicht von Ring- und Längsmuskeln und weiter nach innen verlaufen 8 starke Bündel von

Längsmuskeln; $^{8}/_{11}$ des Querdurchmessers vom Rande entfernt ziehen jederseits 2 Längsgefäße durch die Kette, dorsal ein größeres, ventral ein kleineres, und nach außen von ihnen, $^{2}/_{11}$ des Querdurchmessers vom Rande, der Hauptlängsnerv.

Die Geschlechtsöffnungen stehen am Rande und einseitig. Die 0,026 mm langen und am Ende 0,010 mm breiten Cirren sind kolbig und mit feinen Spitzen besetzt; der Cirrusbeutel nimmt $^{8}/_{14}$ des Querdurchmessers ein und ist wurstförmig; in jedem Gliede finden sich 3 Hoden, die in einer Querreihe eng aneinander gedrängt liegen und zusammen etwas weniger Raum, innerhalb der Gefäße, als die Hälfte des Querdurchmessers einnehmen. Die Vagina verläuft schwach geschlängelt und erweitert sich am Ende zu einem birnförmigen Receptaculum seminis, das nicht ganz die Mittellinie erreicht; der kleine Dotterstock liegt ventral in der Mittellinie, dorsal von ihm der gestreckte Keimstock, der etwa die Hälfte des Querdurchmessers einnimmt. Uterus und Eier waren noch nicht entwickelt.

Zusammen mit Hymenolepis furcifera fanden sich in Podiceps nigricollis auch Exemplare von Tatria biremis Kow. Das

Genus Tatria

wurde 1904 von Kowalewski aufgestellt; die 3 hierher gehörenden Arten leben in Podiceps und zeichnen sich aus durch einen kurzen, aus wenig Gliedern bestehenden Körper, die hinten stark verlängert sind, so daß jedes einzelne Glied glockenförmig erscheint; das Rostellum trägt einen einfachen Hakenkranz; die männlichen Geschlechtsöffnungen stehen am Rande ganz vorn am Gliede, bald regelmäßig, bald unregelmäßig abwechselnd; die Cirren sind bedornt; an der Grenze von je 2 Gliedern, in den Hinterrand des anderen und den Vorderrand der nachfolgenden hineinragend steht das Receptaculum seminis, das zugleich als Vulva dient, denn Cohn fand bei Tatria scolopendra ventral in dem selben einen abgerissenen Cirrus. Dadurch wird die Bedeutung der nach hinten verlängerten Gliedränder klar, denn in den durch dieselben gebildeten Nischen muß der Cirrus in der Mittellinie das Lumen treffen, in das der Samen ergossen werden soll. Bei Tatria biremis gehen nach Kowalewski diese Receptacula seminis zu einem Längskanal verbunden ineinander über, da das Hinterende des einen in das Vorderende des folgenden einmündet. Die Vagina verläuft ohne Mündung nach außen hin- und hergewunden und geht, die Receptacula seminis miteinander verbindend, von einer Proglottide in die andere über. Der Hals des Rostellum ist mit Kränzen kleiner Häkchen besetzt; in jedem Gliede liegen 7 Hoden.

Tatria acanthorhyncha (Wedl.)

lebt in Podiceps nigricollis und P. minor; die Länge beträgt 6 mm, die Breite 2 mm; am Rostellum stehen 14 Haken von 0,021 mm Länge; Mrázek beschrieb diese Art im Jahre 1900; er setzte sie in das Genus Schistotaenia; die männlichen Geschlechtsöffnungen stehen regelmäßig abwechselnd.

Tatria scolependra (Dies.)

aus Podiceps dominicensis; die Länge beträgt 11 mm, die Breite 2,1 mm; die männlichen Geschlechtsöffnungen stehen unregelmäßig abwechselnd; die Rostellumhaken sind nicht beschrieben; die Saugnäpfe stehen ganz hinten an dem langgestreckten Skolex, was Diesing schon

1856 abbildete; Cohn, der diese Art 1900 beschrieb, fand die Receptacula seminis ventral und dorsal offen.

Tatria biremis Kow.

aus Podiceps nigricollis. Kowalewski beschrieb diese Art im Jahre 1904 als 1,9 mm lang und 0,7 mm breit; am Rostellum stehen

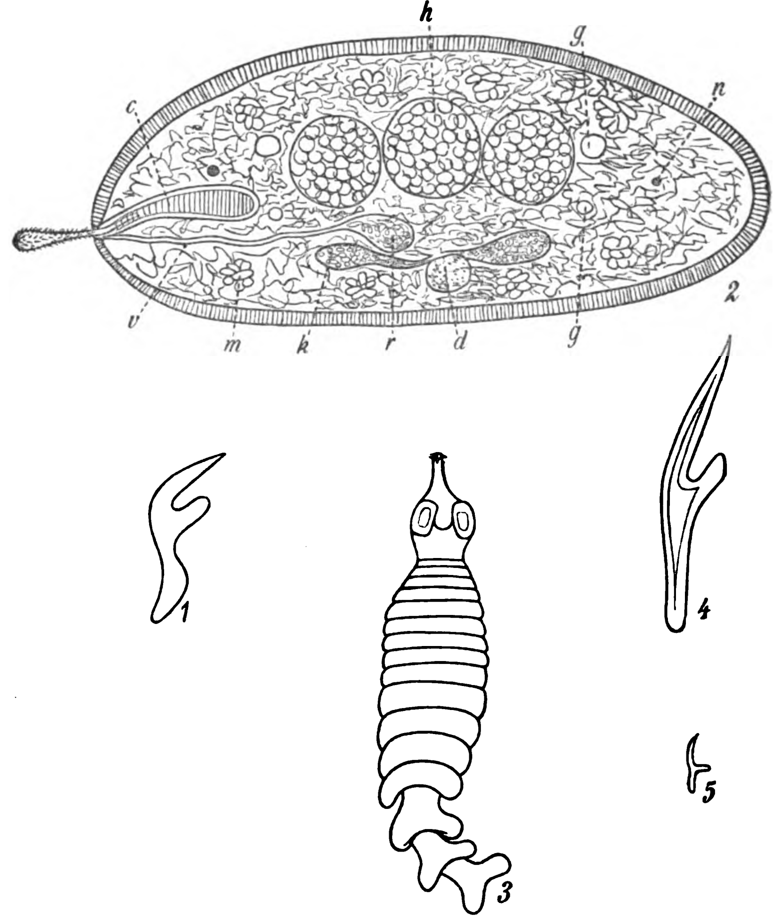


Fig. 1—2. Hymenolepis furcifera. 1) Haken des Rostellum, 2) Querschnitt durch ein reifes Glied; *m* Längsmuskelbündel, *g* Gefäße, *n* Nerv, *c* Cirrusbeutel, *h* Hoden, *v* Vagina, *r* Receptaculum seminis, *d* Dotterstock, *k* Keimstock.

Fig. 3—5. Tatria biremis, 3 Körperumriß, 4 Rostellumhaken, 5 Häkchen vom Rostellumhals.

10 Haken von 0,044—0,050 mm Länge; die männlichen Geschlechtsöffnungen stehen regelmäßig abwechselnd und mitunter finden sich sekundäre Vaginagänge, die seitlich ausmünden. Meine Exemplare waren 2,37 mm lang und in der Mitte 0,64 mm, hinten 0,27 mm breit; die höchste Gliederzahl betrug 14; die 10 Rostellumhaken waren 0,0468 mm lang; die hinfälligen kleinen Häkchen, welche in Ringen den Hals des Rostellum umgeben, sehe ich anders als Kowalewski und gebe ich in der Zeichnung ihre Form wieder; sie messen 0,0051 mm.

Nachdruck verboten.

Ist die erworbene Immunität vererbbar?

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der Universität zu Kolozsvár (Direktor: Prof. v. Lőte).]

Von Privatdozenten Dr. **Daniel Konrádi,** Assistenten am Institute.

In der Vererbungslehre ist eine viel umstrittene, aber noch immer offene Frage diejenige der Vererbung erworbener Eigenschaften. In der Literatur herrschen darüber zwei Meinungen. Nach der Weismannschen Lehre sind die erworbenen Eigenschaften nicht vererbbar. Diese Meinung vertreten die meisten Forscher, besonders aber Weismann, Ziegler, Martius. Viele Anhänger hat aber auch die andere Lehre, welche die Möglichkeit der erblichen Uebertragung von erworbenen Eigenschaften zugibt (siehe besonders das Werk von Kassowitz, Allgemeine Biologie. Bd. II).

Wenn man von den früheren, auf rein anatomische Basis und statistische Daten sich stützenden Mitteilungen absieht, so kann man sagen, daß die neue Epoche in dieser Lehre erst in der jüngsten Zeit beginnt, wo man mit zweckmäßigen Experimentaluntersuchungen die Frage zu lösen sucht. Besonderen Aufschwung nahm diese Lehre mit der Kenntnis der Antitoxine, Agglutinine und Präzipitine.

Der erste Forscher, der in dieser Richtung diese Frage behandelt, war Hőgyes. Er berichtete schon am 15. April 1889 in der ungarischen Akademie für Wissenschaften über die Vererbung der künstlich erworbenen Immunität gegen Lyssa. Hőgyes unternahm seine Untersuchungen an 4 Hündchen, welche von lyssaimmunen Eltern stammten. Diese Jungen wurden im Alter von 3 Monaten mit Straßenvirus intraokulär infiziert. Der erste bekam die Wut am 13. Tage und ging binnen 4 Tagen daran zu Grunde, der zweite erlag nach einer 28-tägigen Inkubation in 24 Stunden, der dritte wurde nach 42 Tagen wütend und erlag nach einer 3-tägigen Krankheit. Der vierte erkrankte an typischer Lyssa zu gleicher Zeit wie der dritte, ist aber genesen und war bei einer zweiten Inokulation noch giftfest.

Dies will ich nur deshalb hervorheben, weil in der diesbezüglichen Literatur diese Beobachtung von Hőgyes nicht oder kaum gewürdigt wird. Morgenroth erwähnt bei der Behandlung dieser Frage in Bd. IV des Handb. der pathogenen Mikroorganismen die Untersuchungen von Hőgyes gar nicht, obwohl dieselben nicht nur in ungarischer, sondern auch im 1889er Jahrgange der Ann. de l'Institut Pasteur auf p. 434 unter dem Titel: L'immunité artificielle contre la rage est-elle héréditaire? auch in französischer Sprache mitgeteilt wurden.

Im Jahre 1892 erschien die diesbezügliche Mitteilung von Ehrlich. Er unternahm seine Untersuchungen an den Nachkommen solcher Tiere, welche gegen Ricin, Robin und Abrin immunisiert waren. Er war dabei zu dem Schlusse gekommen, daß das Idioplasma des Sperma und der Eizelle nicht im stande ist, die Immunität zu übertragen; daß die Immunität, die wir bei der Nachkommenschaft immunisierter Mütter beobachten, auf einer Mitgabe der mütterlichen Antikörper durch das Blut beruht und nur kurze Zeit andauert; daß die Milch das eigentliche Agens ist, welches dem säugenden Organismus die immunisierenden

Substanzen zuführt; daß diese Immunität eine passive ist und nur eine Dauer von 2 bis höchstens 3 Monaten besitzt.

Ueber diese Untersuchungen äußert sich Morgenroth (Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV. p. 784) folgendermaßen: „Sein Programm ist mustergültig geblieben, seine Fragestellung hat im Laufe von 12 Jahren weder eine Umgestaltung noch auch nur eine Erweiterung oder Vertiefung erfahren, und seine Ergebnisse sind bis heute vollkommen aufrecht erhalten und mannigfach bestätigt worden.“

Fast zu gleicher Zeit erschienen die Untersuchungen von Vaillard, Tizzoni und Cattani, Vaillard und Rouget und im nächsten Jahre (1893) diejenigen von Tizzoni und Centanni. Die letztgenannten Forscher untersuchten die Rolle des Vaters bei der Vererbung der Immunität gegen Rabies und kamen zu dem Schlusse, daß der Vater durch den Samen seinem Kinde die von ihm erworbene Immunität gegen Rabies überliefern kann; daß zum Zustandekommen dieser Ueberlieferung keine besonderen Eigenschaften von der Mutter erfordert werden; daß die durch das Sperma überlieferte Immunität dauernd ist im Gegensatz zu dem, was über die durch das Blut oder die Milch übertragene Immunität bekannt ist.

Diese Ergebnisse von Tizzoni und Centanni werden durch Emery bestätigt, indem er sagt: „Die künstlich erworbene Immunität kann durch Vererbung übertragen werden und zwar vom Vater auf die Kinder, was nur im Akte der Zeugung geschehen kann. Diese infolge der Zeugung geerbte dauernde Immunität ist nicht zu verwechseln mit einer vorübergehenden Festigkeit, welche von der Mutter durch Diffusion im Placentarkreislauf oder von der Amme durch die Milch übertragen werden kann.“ In diesem Sinne erklärt auch Ribbert die Immunität der Nachkommenschaft männlicher Tiere, die gegen Hundswut immunisiert wurden, und neuestens auch Roux, indem er sagt: „An der Herstellung der dauernden Immunität ist vielleicht neben Ehrlichs Prinzip noch das zur Erklärung der Gewöhnung an Gifte herangezogene Prinzip der inneren Umzüchtung der Zellen und Isoplassonten im Organismus beteiligt“ (Isoplasson = Gleiches Bildner).

In den Versuchen von Tizzoni und Centanni ist aber nach Ehrlich und Hübener als ein erblicher Fehler zu betrachten, daß die Mütter nicht Tiere von normalem Verhalten, sondern in hohem Grade gegen Tetanus immunisiert waren, und daß die Mütter auf ihr Verhalten der Rabies gegenüber nicht geprüft wurden. Aus dem Umstande, daß die Nachkommen in den Untersuchungen von Tizzoni und Centanni bei einer zweiten Inokulation noch immun waren, darf man nicht folgern, sagen Ehrlich und Hübener, daß die paternell übertragene Immunität eine dauernde sei, es handelte sich hier um nichts weiter als eine aktive Immunisierung, welche durch die erste Inokulation bewirkt wurde. Auch Wernicke ist bei der Besprechung der Untersuchungen von Tizzoni und Centanni der Meinung, daß die Versuche vielleicht anders ausgefallen wären, wenn die Verff. nicht gegen Tetanus stark immune Mütter verwendet hätten und daß möglicherweise das Tetanustoxin dem Tollwutgifte entgegengewirkt habe.

Im Jahre 1894 berichten Babes und Talasescu über diesbezügliche Untersuchungen, die sie an 3 Hündchen vorgenommen haben, deren Eltern in hohem Grade lyssaimmun waren. Die Hündchen wurden im Alter von 45 Tagen mit Straßenvirus intraokulär infiziert. Alle drei erkrankten am 16. Tage an Lyssa und gingen nach einer Krankheits-

dauer von 13—14 Tagen daran zu Grunde. Sie kamen also zu dem Schlusse, „que cette immunité héréditaire n'est pas la règle“. Ich bin aber bei der Erwähnung dieser Versuche der Meinung, daß irgend welche Immunität doch vorhanden war, sonst hätten die jungen Hündchen nicht so lange mit der ausgebrochenen Krankheit kämpfen können. Meine diesbezüglichen Untersuchungen, die ich an mehreren jungen Hündchen unternahm, beweisen, daß die ausgebrochene Krankheit bei so jungen Tieren höchstens 24 Stunden dauert.

Zwei Jahre später (1896) untersucht Vaillard die Vererbung der erworbenen Immunität an den Nachkommen solcher Meerschweinchen und Kaninchen, welche teils gegen Tetanus, teils gegen Milzbrand, Cholera und Vibrio Metschnikoff immunisiert waren, und bestätigt die Ergebnisse von Ehrlich.

Im Jahre 1899 untersuchte Remlinger die Rolle des Vaters, der Mutter und der Säugung an den Nachkommen solcher Kaninchen und Meerschweinchen, welche gegen Typhus immunisiert waren, und konnte in den ersten zwei Punkten die Ergebnisse von Ehrlich bestätigen. Er untersuchte zugleich die agglutinierende Fähigkeit des Blutserums der Jungen, und konnte nachweisen, daß auch bei der Uebertragung der Agglutinine dem Vater gar keine Rolle zukommt; nur die Mutter ist im stande, dieselben zu übertragen, die Säugung spielt bei der Uebertragung der Immunität keine Rolle.

Interessant sind in dieser Beziehung die Untersuchungen von Dzierzgowski aus dem Jahre 1901, welche die Frage der Vererbung von künstlicher antidiphtheritischer Immunität behandeln. Nach diesen Untersuchungen steht das Ei unter besseren Bedingungen bezüglich der Uebertragungsfähigkeit der Immunität auf die Nachkommenschaft als das Spermatozoon. Die Hodenflüssigkeit besaß höchstens 1 I.-E. (Immunitätseinheit), dagegen die Follikelflüssigkeit ungefähr soviel I.-E., wie das aus denselben Tieren stammende Blutserum. Interessant ist auch die Erfahrung, daß die antitoxische Kraft der Follikelflüssigkeit verschieden ist, daher die Verschiedenheit unter den Nachkommen einer und derselben Mutter. 3 Jahre später (1904) beschäftigt sich der Verf. wieder mit dieser Frage und bestätigt die Möglichkeit der hereditären Immunität, nur sind, sagt er, unsere groben Methoden nicht im stande, ihre Existenz nachzuweisen.

Im Jahre 1904 beschäftigt sich Lustig mit der Frage, ob die für Gifte erworbene Immunität von den Eltern auf die Nachkommenschaft übertragbar ist. Lustig weist auf die Meinung von Oscar Hertwig hin, nach welcher die Gewebszellen durch die Gifte gewisse eigentümliche Veränderungen erleiden, daß diese Modifikationen auch in den Produkten der Sexualorgane auftreten und daher auf die Nachkommenschaft übergehen. Lustig untersuchte die Immunität von Kücken, die aus den Eiern solcher Hennen ausgebrütet wurden, welche gegen Ricin und Abrin immunisiert waren. Er ließ Eier dreierlei Provenienz ausbrüten: 1) Eier von nicht immunisierten, durch einen immunisierten Hahn befruchteten Hennen; 2) Eier von immunisierten, durch einen nicht immunisierten Hahn befruchteten Hennen; 3) Eier von immunisierten, durch einen immunisierten Hahn befruchteten Hennen. Aus diesen Untersuchungen kam Lustig zu dem Schlusse, daß es keine erbliche Uebertragung der Immunität von den Eltern auf die Nachkommenschaft gibt. Die Nachkommenschaft wird in schwächlichem oder kachektischem Zustande geboren und widersteht der Giftwirkung weniger gut als gesunde Tiere.

Von den neuesten diesbezüglichen Untersuchungen gehören diejenigen von Kleine und Möllers, die Mitteilung von Anderson und schließlich die Untersuchungen von Panichi hierher. Kleine und Möllers betrachten die Frage der ererbten Immunität im Sinne Ehrlichs als sicher bewiesen und sagen: „Diese prinzipiellen Befunde gelten zugleich auch für alle Arten der Antikörper, die bei Infektionskrankheiten im mütterlichen Organismus gebildet werden.“ Sie beschäftigten sich mit der Piroplasmosis der Hunde, einer Krankheit, die einerseits ziemlich starke Immunität hinterläßt, andererseits gerade junge Tiere heftig befällt. Sie konnten die Frage im Sinne Ehrlichs bestätigen, außer dem Einfluß des Säugens, indem sie sagen, daß man denselben auf die Erhaltung der passiven Immunität nicht zu hoch anschlagen darf.

Anderson infizierte die Muttertiere während der Schwangerschaft einmal mit einem Diphtherietoxin-Antitoxingemisch und fand die Nachkommen in 52—54 Proz. giftfest.

Schließlich sollen die Untersuchungen von Panichi eine kurze Erwähnung finden. Es gelangten zur Untersuchung Nachkommen a) von immun gemachten Weibchen bei normalem Männchen; b) von normalem Weibchen, aber immun gemachten Männchen; c) von immunem Elternpaare. Nach diesen Untersuchungen kann die Uebertragung auf die Nachkommen sowohl von seiten der Mutter als auch von seiten des Vaters erfolgen; der Vater überträgt auf das Junge einen gewissen Widerstandsgrad, welcher in direktem Verhältnisse zu dem Immunitätsgrade des Vaters steht; die von den Eltern auf die Nachkommen übertragenen Mikroben vermögen keineswegs dem Serum dieser antitoxische Eigenschaften zu verleihen und wenn trotzdem die Jungen ein antitoxisches Vermögen besitzen, so haben sie es von den Eltern ererbt.

Wie die oben erwähnten literarischen Angaben beweisen, brachten die Nachkommen beinahe in allen Fällen eine kürzer oder länger dauernde Immunität zur Welt. Nur in der Erklärung dieser Eigenschaft sind die Meinungen verschieden. Die meisten Angaben sprechen dafür, daß diese Immunität ein einfacher Uebergang der Schutzkörper von der Mutter auf den Fötus durch den Placentarkreislauf ist. Es gibt aber auch solche Erfahrungen, die dafür sprechen, daß die Immunität auch vom Vater vererbbar ist, schließlich sprechen viele Erfahrungen dafür, daß die Schutzkörper auch bei der Säugung durch die Milch übertragen werden. Aber in allen diesen Fällen, besonders durch die Placenta und die Milch, ist die Möglichkeit eines Ueberganges von Infektionsstoffen nicht ausgeschlossen. Aus diesem Grunde halte ich es für notwendig, auch diejenigen Erfahrungen zu erwähnen, in denen eine solche Möglichkeit auszuschließen war, da entweder Antitoxin enthaltendes Serum der Mutter injiziert wurde und dieses oder aber die den Antitoxinen in biologischer Hinsicht ähnlichen Agglutinine im fötalen Serum gefunden wurden.

Uebergang der Agglutinine.

Ueber einen solchen Uebergang finden wir in der Literatur gleich nach der Entdeckung der Agglutinine viele Angaben. So bei Lannelongue und Achard, bei Widal und Sicard und in den Untersuchungen von Dieudonné. Nach den Erfahrungen von Kasel und Mann, Etienne, Charrier und Apert, Dagliotti, Jehle war

im Serum der Nachkommen gar keine Spur von Agglutininen zur Zeit, wo dieselben im mütterlichen Serum noch leicht nachgewiesen werden konnten. Hingegen erhielten Chambrelent und S. Philippe, Mosse und Dennie, Scholtz ausgesprochene Agglutination mit dem fötalen Serum.

Aber nicht nur das Serum, sondern auch die Milch kann die Agglutinine übertragen, obwohl in sehr spärlichen Mengen (Castaigne, Landouzy und Griffon), manchmal kann man aber in der Milch keine Spur von Agglutininen finden (Achard).

Diese Frage wurde durch Schumacher im Jahre 1901 einer gründlichen Bearbeitung unterworfen. Er zeigte, daß die menschliche Placenta keinen völlig sicheren und unübersteiglichen Schutzwall gegenüber den im mütterlichen Blute kreisenden pathogenen Mikroorganismen gewährt, die letzteren vielmehr die entsprechende Krankheit auch im fötalen Organismus hervorzurufen vermögen. „Macht sich — sagt Schumacher — ein derartiges Verhalten der Placenta schon geformten Gebilden, wie den lebenden Mikroben selbst gegenüber bemerkbar, so wird man annehmen müssen, daß es in noch höherem Maße für die gelösten Krankheitsstoffe, für die Erzeugnisse der Bakterien und die unter deren Einfluß im Organismus entstehenden Antikörper zutrifft."

Für das Auftreten löslicher Substanzen, also auch der Agglutinine im fötalen Blute, liegen nach Schumacher folgende Gründe vor: 1) Eigene Produktion dieser Stoffe im Fötus. Die Veranlassung hierzu kann sowohl in einer sekundären Infektion des fötalen Organismus mit den lebenden Krankheitserregern liegen, die von der Mutter auf den letzteren übergehen, als auch in einer Intoxikation mit spezifischen Giftstoffen, welche unter dem Einfluß der Erkrankung im mütterlichen Organismus gebildet werden. 2) Kann die Quelle in dem Uebergang fertiger Stoffe, d. h. der Agglutinine selbst zu suchen sein, und dies geschieht auf dem Wege der Blutbahn und auch durch die Ernährung. Aus seinen Untersuchungen folgt, daß die agglutinierende Kraft in einigen Fällen dem Fötus mitgeteilt wird, in anderen nicht, und zwar dann nicht, wenn die Erkrankung schon eine gewisse Zeit vor dem Eintritt der Gravidität beendigt war oder in die erste Hälfte der Schwangerschaft fällt, man kann sie aber nachweisen, wenn die Mutter in den letzten Monaten den Typhus überstanden hat. Die agglutinierende Kraft des Fötus ist auch nach Schumacher von kurzem Bestande, gleich nach der Geburt ist sie „eine nahezu gleiche", am 11. Tage 25 Proz. schwächer, am 83. Tage war bei der Mutter eine gesteigerte Agglutination, bei dem Säugling gar keine. Die Muttermilch fand Schumacher in dieser Hinsicht ohne Bedeutung, sie ruft im Säuglingsblut in der Regel keinerlei spezifische Veränderungen hervor.

Im Jahre 1903 ist Jurewitsch bestrebt, diese Frage mit Experimentaluntersuchungen zu lösen. Von der Erfahrung ausgehend, daß das Blut erwachsener Kaninchen manchmal eine ausgesprochene agglutinierende Kraft besitzt, kam ihm der Gedanke, daß die Mutter nicht die Agglutinine selbst, sondern die Fähigkeit, dieselben zu produzieren, den Früchten übergeben könnte. Er konnte nachweisen, daß mit der Zeit die Tiere die Agglutinine in vermehrter Menge zu bilden anfingen, so daß einige Wochen nach der Geburt die agglutinierende Eigenschaft der Jungen bedeutend größer war als die der Mütter. Aus diesen Untersuchungen kam Jurewitsch zum Schlusse, daß die Fähigkeit, Agglutinine zu bilden, vererbt werden kann.

In den weiteren Untersuchungen ließ Jurewitsch die Männchen zu den immunisierten Müttern erst nach mehreren Monaten nach Beendigung der Immunisierung und konnte nachweisen, daß in einem Falle die agglutinierende Kraft des Fötus- und Mutterserums gleich, in 2 Fällen diejenige des Fötus 2mal und in einem Falle ja sogar 5mal größer war. Eine gleiche Erfahrung machten auch Lagriffoul und Pagès. Es handelte sich um eine sehr schwere Erkrankung, bei welcher das Mutterserum bei 1 : 5, das fötale hingegen bei 1 : 10 noch agglutinierte, und sie glauben, daß im kindlichen Körper eine aktive Agglutininwirkung stattgefunden habe, angeregt durch eine Passage der im mütterlichen Blute kreisenden Tuberkeltoxine durch die Placenta.

Auf die oben erwähnten Ergebnisse von Jurewitsch reflektiert Stäubli mit seinen gründlichen, auf viele Erfahrungen und literarische Angaben sich stützenden Experimentaluntersuchungen, die zum Schlusse führten, daß für die Annahme einer Vererbung der Agglutininbildung als „erworbene Eigenschaft des Plasmas" keine Beweise erbracht werden konnten, ebenso nicht für die Bildung der Agglutinine im fötalen Organismus; daß sowohl die aktiv als auch die passiv erworbenen Agglutinine von der Mutter auf den Fötus übergehen; daß der Agglutinationswert des fötalen Serums sich um so mehr dem des mütterlichen nähert resp. ihm gleichkommt, je mehr erste Injektion und Wurf zeitlich getrennt sind; daß die Jungen ein und desselben Wurfes ungefähr den gleichen Serumgehalt an Agglutininen zeigen. Diese Ergebnisse bestätigt Stäubli auch in seinen späteren Untersuchungen, welche teils an Menschen, teils an Versuchstieren durchgeführt wurden.

Interessant sind in dieser Beziehung auch die Untersuchungen von Figari, in denen untersucht wurde, ob die tuberkulösen Agglutinine und Antitoxine bei den Hühnern von der Mutter auf das Ei übergehen. Er verabreichte zu diesem Zwecke einer Reihe Hennen täglich, und zwar ungefähr 2 Monate lang, 20 g frischen Blutgerinnsels, das gegen Tuberkulose immunisierten Pferden entstammte, und fand, daß schon nach 1-monatlicher Eingabe des Gerinnsels in dem Eidotter sich bemerkenswerte Spuren tuberkulösen Agglutinins vorfanden. Im Eiweiß dagegen traten sie erst später auf und auch in geringeren Quantitäten.

Einer anderen Reihe Hühner wurde alle 2 Tage eine aus $^1/_{100}$ g entfetteter Bacillen und 10 Tropfen tuberkulösen Proteins Maragliano zusammengesetzte Pille eingegeben. Diese wurden so 2 Monate lang behandelt und erhielten je 22 Pillen. Bei diesen war nach dieser Zeit der Agglutiningehalt des Eigelbs $^1/_{60}$, des Eiweißes $^1/_{20}$. Auch die 3 Monate nach Beendigung der Behandlung untersuchten Eier ergaben immer dieselben Werte, die Hennen hatten Seren mit einem Agglutinationsvermögen von $^1/_{150}$.

Der Antitoxingehalt der Milch.

Was den Antitoxingehalt der Milch anbelangt, so wissen wir aus der ersten Mitteilung von Ehrlich, daß auch die Milch der immunisierten Tiere dieselben enthält. Solche Erfahrungen haben dann später Ehrlich und Wassermann und auch Salomonsen und Madsen gemacht.

Im Jahre 1903 untersuchte Stäubli die Wege der Ausscheidung der Typhusagglutinine und konnte im Harn, in der Galle, im Speichel, in der Tränenflüssigkeit kaum Spuren von Agglutininen nachweisen, sie werden aber zur Zeit der Laktation in ganz erheblichem Maße, in manchen

Fällen, namentlich gleich nach der Geburt, sogar in einer den Serumgehalt bei weitem übersteigenden Menge mit der Milch ausgeschieden. In einer späteren Beobachtung konnte dies Stäubli auch am Menschen bestätigen, wo die Milch der Mutter, besonders das Colostrum, kräftige Agglutinine enthielt, und glaubt, daß die Milchdrüse sich aktiv an der Agglutininbildung beteiligt.

Neben diesen positiven Ergebnissen gibt es aber auch negative. Schütz, der sich öfters und sehr eingehend mit der Uebertragung der natürlichen Immunität beschäftigte, konnte in der Muttermilch keine Schutzstoffe nachweisen.

Nach den Untersuchungen von Wlaeff war die Milch eines Tieres, das gegen Blastomyceten immunisiert worden war, nicht nur während der Immunisation, sondern auch 2 Jahre nach Beendigung derselben im stande, ein säugendes Junges giftfest zu machen.

Bemerkenswert sind auch die Untersuchungen von La Torre, der seine Beobachtungen an 17 Ammen anstellte, welche 17 Kinder im Alter von 1—24 Monaten säugten. Diesen Ammen wurden 3000—6000 I.E. Diphtherieserum injiziert. Die Untersuchungen ergaben, daß in jedem Falle, ohne Unterschied des Alters, ein Uebergang der spezifischen Antikörper ins Blut der Säugenden erfolgte, aber nur in minimalen Mengen, weshalb dieser Weg weder für prophylaktische noch für kurative Zwecke brauchbar ist.

Im Jahre 1904 untersuchte diese Frage sehr eingehend De Blasi. Durch seine Experimente konnte er beweisen, daß bei der passiven Immunität der Mutter die Säuglinge nicht genügend immunisiert werden, hingegen gehen bei der aktiven Immunität nicht nur die Antikörper in die Milch über, sondern sie können auch die Magen- und Darmschleimhaut in genügender Menge passieren, um die Wirkung einer sicher tödlichen Giftdosis zu neutralisieren.

Die neueste diesbezügliche Erfahrung ist diejenige von Griffon und Abrami. Sie untersuchten die Frage der Agglutininübertragung bei einem während der Laktation auftretenden Falle von Typhus, $2^1/_2$ Monate nach der Geburt. Das Serum der Mutter agglutinierte in hohem Grade sowohl Typhus- als Paratyphusbacillen. Die Paratyphusagglutinine verschwanden sehr bald, die Typhusagglutinine waren sehr lange nachweisbar. Die Milch enthielt ebenfalls beide Arten der Agglutinine, die jedoch weniger stark wirkten wie die des Serums, besonders schwach waren die Paratyphusagglutinine. Das Serum des Kindes, welches von der Mutter gestillt wurde, entbehrte auffälligerweise jedes Agglutinationsvermögen Typhusbacillen gegenüber, agglutinierte hingegen sehr kräftig verschiedene Paratyphusbacillenarten. Es spricht dies dafür, daß der Organismus des Säuglings in vivo die Dissociation der verschiedenen, im Serum und in der Milch der Mutter enthaltenen Agglutinine ebenso genau zu stande gebracht hat, wie dies in vitro nach der Methode von Castellani erreicht werden kann.

Schließlich sollen noch die Untersuchungen von Bertarelli erwähnt werden, welche zum Nachweis führten, daß wie bei den Agglutininen und Antitoxinen auch bei den hämolytischen Ambozeptoren und den Präzipitinen der Durchgang in die Milch der immunen Tiere stattfindet, es ist aber ihre Menge sehr spärlich.



Aus den oben erwähnten Angaben sahen wir, daß Antitoxine, Agglutinine, Präzipitine etc. von der Mutter auf das Kind übertragen werden, und daß diese Uebertragung in den meisten Fällen eine placentare ist. Bekanntlich hat aber die v. Behringsche Schule (Behring, Römer) das Gesetz aufgestellt, daß unter normalen Verhältnissen eine placentare Uebertragung der Antitoxine von der Mutter auf das Kind nicht stattfindet. Diese Frage, welche von großer theoretischer und praktischer Bedeutung ist, wurde im Jahre 1904 durch Polano einer gründlichen Bearbeitung unterworfen. Seine Untersuchungen führten zu folgendem Resultat: „Beim Menschen findet regelmäßig der Antitoxinübergang von der Mutter auf das Kind durch die intakte Placenta hindurch statt sowohl bei passiver wie auch aktiver und natürlicher Immunität der Mutter." Bei der Besprechung der vergleichenden Anatomie und Physiologie der Placenta ist Polano auch der Meinung, daß das Zottenepithel eine vitale Energie hat.

Aber nicht nur die Antitoxine und Agglutinine etc. können die Placenta passieren, sondern man kann nach den Erfahrungen von Assareto die Möglichkeit eines Ueberganges von Fetttröpfchen auf dem Wege durch die Zotten annehmen. Interessant ist die Erfahrung von Magni. Er unterband nämlich in der ersten Zeit der Trächtigkeit einen Ureter und konnte in den Nieren der Neugeborenen die gleichen Veränderungen feststellen, welche man nach Injektionen von nephrotoxischen Substanzen findet.

Schließlich soll noch eine Erfahrung von Merkel erwähnt werden, nach welcher die Präzipitinreaktion auch vererbt werden kann.

Die oben erwähnten und in manchen Punkten sich widersprechenden literarischen Angaben gaben mir den Anlaß dazu, diese Frage näher zu untersuchen und hielt dabei besonders den Vorschlag von Hőgyes und von Tizzoni und Centanni vor Augen, daß es mit der Zeit gelingt, auf diese Weise durch Erziehung von Hunderassen, welche gegen Rabies immun sind, die Lyssa der Hunde und damit die Hauptquelle der Uebertragung dieser Krankheit auf den Menschen auszurotten.

Daher immunisierten wir mehrere Hunde gegen Lyssa. Die Immunisierung geschah nach der Methode von Hőgyes und dauerte gewöhnlich 14 Tage lang. Wir benützten zu unseren Untersuchungen deshalb Hunde und gerade die Lyssa, weil dieses Tier gegen die Wut sehr empfänglich ist und man es leichter Jahre hindurch in Beobachtung halten kann.

Der Plan der Untersuchungen war, daß wir die Jungen derselben Eltern nacheinander in mehr oder minder großen Zwischenräumen auf ihre Immunität prüfen und so die zeitige Grenze für das Bestehen derselben feststellen, wie dies Ehrlich und Hübener forderten.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Neue Tatsachen über die Blutkörperchenagglutination[1]).

[Aus dem Institute für med. Pathologie der kgl. Universität Pavia.
Direktor: Prof. L. Devoto.]

Von Privatdozent Dr. C. **Moreschi**, Assistent des Instituts.

Im Anschluß an gemeinschaftlich mit Friedberger angestellte Versuche über Beschleunigung der Hämolyse durch präzipitierende Sera (dies. Centralbl. Bd. XLV. Heft 4) habe ich weiterhin analoge Versuche über Agglutination angestellt. Aus denselben ergab sich, daß Erythrocyten, die mit einer an sich nicht agglutinierenden Dosis des entsprechenden Immunserums beladen werden, beim Hinzutritt kleiner Mengen von präzipitierendem Serum außerordentlich schnell und stark verklumpen, wenn man als Antieiweißserum ein für die Tierspecies präzipitierendes Serum benutzt, welche der Ambozeptor geliefert hat.

Zu meinen Versuchen benutzte ich Kaninchenblutkörperchen, beladen mit Ambozeptor einer, lange Zeit mit Kaninchenblutkörperchen behandelten Ziege. Als Antieiweißserum diente das Serum eines mit Normalziegenserum behandelten Kaninchens.

Tabelle I.

Kaninchenblutkörperchen 5 Proz.	Ziegenimmunserum	Kaninchen präzipit. Serum	Agglutination
1 ccm	0,005 ccm	0,0001 ccm	0
1 "	0,005 "	0,0005 "	mäßig
1 "	0,005 "	0,001 "	stark
1 "	0,005 "	0,005 "	sehr stark
1 "	0,005 "	0,01 "	" "
1 "	0,005 "	0,05 "	" "
1 "	0,005 "	0,1 "	" "
1 "	—	0,1 "	0
1 "	0,01 "	—	0
2 Stunden Zimmertemperatur. Zentrifugierung u. Waschung der Blutkörperchen mit Kochsalzlösung (0,85 Proz.)		2 Stunden bei Zimmertemperatur	

Ich bemerke, daß weder das Antieiweißserum an sich in jeglicher Dosis, noch das Ambozeptorserum in den in Betracht kommenden Dosen und mehrfachen Multiplis im stande ist, Kaninchenblutkörperchen zu agglutinieren.

Um diese spezielle Agglutination deutlich hervortreten zu lassen, ist es jedoch unbedingt erforderlich, mit gut gewaschenen, beladenen Blutkörperchen zu arbeiten, da die Gegenwart des gesamten Ambozeptorserums, auch in geringen Mengen, das Phänomen verhindert. Die Agglutination tritt nur ein, wenn Ziegenimmunserum zur Beladung benutzt wurde; sie fehlt bei Verwendung von Ziegennormalserum, während doch in beiden Fällen die Bedingungen zur Präzipitation die absolut gleichen sind (Tabelle II).

1) Diese Versuche wurden am 29. September 1907 auf dem Berliner Kongreß für Hygiene und Demographie mitgeteilt.

Tabelle II.

Kaninchenblutkörperchen 5 Proz.	Ziegenimmunserum oder Ziegennormalserum	Kaninchen präzipit. Serum	Agglutination mit Immunserum	Agglutination mit Normalserum
1 ccm	0,005 ccm	0,0001 ccm	0	0
1 „	0,005 „	0,0005 „	mäßig	0
1 „	0,005 „	0,001 „	stark	0
1 „	0,005 „	0,005 „	sehr stark	0
1 „	0,005 „	0,01 „	„ „	0
1 „	0,005 „	0,05 „	„ „	0
1 „	0,005 „	0,1 „	„ „	0
1 „	—	0,1 „	0	0
1 „	0,01 „	—	0	0
2 Stunden Zimmertemperatur. Zentrifugierung u. Waschung d. Blutkörperchen mit Kochsalzlösung (0,85 Proz.)		2 Stunden Zimmertemperatur		

Immerhin besteht aber doch ein gewisser Zusammenhang: Natürlich haben die Blutkörperchen im Kontakt mit dem Immunserum sich mit Ambozeptor beladen, während sie aus dem Normalserum keine oder nur eine ganz geringe Menge von Ambozeptor zu entziehen vermögen. So bleibt immer noch die Möglichkeit übrig, daß zwischen den verankerten Immunambozeptoren und dem präzipitierenden Serum gewisse Beziehungen bestehen. Dafür spricht auch noch indirekt folgende Tatsache: Durch Erhitzung des Serums auf 70° verliert es seine präzipitierende Fähigkeit, zugleich auch die Fähigkeit, bei den beladenen Blutkörperchen Agglutination zu erzeugen (Tabelle III).

Tabelle III.

Kaninchenblutkörperchen 5 Proz.	Ziegenimmunserum	Kaninchen präzipit. Serum unerhitzt oder auf 70° erhitzt	Agglutination unerhitztes Serum	Agglutination auf 70° erhitzt
1 ccm	0,005 ccm	0,0001 ccm	0	0
1 „	0,005 „	0,0005 „	0	0
1 „	0,005 „	0,001 „	mäßig	0
1 „	0,005 „	0,005 „	stark	0
1 „	0,005 „	0,01 „	sehr stark	0
1 „	0,005 „	0,05 „	„ „	0
1 „	0,005 „	0,1 „	„ „	0
1 „	—	0,1 „	0	0
1 „	0,01 „	—	0	0
2 Stunden Zimmertemperatur. Zentrifugierung u. Waschung d. Blutkörperchen mit Kochsalzlösung (0,85 Proz.)		2 Stunden Zimmertemperatur		

Es wäre nun von großer Wichtigkeit, festzustellen, ob durch Ausfällen des Präzipitins aus dem Antieiweißserum mit Hilfe der präzipitablen Substanz diesem auch seine Fähigkeit für das Zusandekommen der Agglutination genommen ist.

Entsprechend den mit Friedberger gemeinschaftlich angestellten Versuchen über die Beschleunigung der Hämolyse läßt sich auch für die Agglutination zeigen, daß bei Kontakt des Antieiweißserums mit den beladenen Blutkörperchen eine minimale Bindung der für die Agglutination in Betracht kommenden Substanz erfolgt, deren Nachweis jedoch

nicht leicht und nur unter sorgfältigster Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse gelingt (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Kaninchenblutkörperchen	Ziegenimmunserum	Kaninchen präzipit. Serum ausgefällt oder nicht ausgefällt	Agglutination	
			ausgefälltes Serum	nicht ausgefälltes Serum
1 ccm	0,005 ccm	0,0001 ccm	0	0.
1 „	0,005 „	0,0002 „	0	0
1 „	0,005 „	0,0004 „	0	0
1 „	0,005 „	0,001 „	0	Spuren
1 „	0,005 „	0,002 „	0	mäßig
1 „	0,005 „	0,004 „	mäßig	„
1 „	0,005 „	0,006 „	„	stark
1 „	0,005 „	0,008 „	„	sehr stark
2 Stunden Zimmertemperatur. Zentrifugierung, Waschung der Blutkörperchen mit Kochsalzlösung (0,85-proz.)		2 Stunden Zimmertemperatur		

0,1 ccm Kaninchen präzipitierendes Serum wurde 2mal mit beladenen (0,01 Ziegenimmunserum per Kubikcentimeter) Kaninchenblutkörperchen einer 5-proz. Aufschwemmung ausgefällt und zwar jedesmal mit den Blutkörperchen von 10 ccm dieser Aufschwemmung.

Die Tatsachen, die ich hier über den Kaninchen-Ziegenambozeptor, die entsprechenden Blutkörperchen und das entsprechende Kanincheneiweißserum mitgeteilt habe, dürfen wohl auch für andere Tierspecies Geltung beanspruchen.

Auch die Spezifizität der Reaktion dürfte die gleiche sein, doch können darüber erst weitere Untersuchungen Aufschluß gewähren, auch darüber, ob das Phänomen bei den Bakterien in gleicher Weise wie bei den Erythrocyten in Erscheinung tritt.

Es scheint mir nicht ungerechtfertigt, in diesen kurz zusammengefaßten Tatsachen einen neuen Ausgangspunkt für die Erklärung und für die theoretische Deutung der feineren Vorgänge bei der Agglutination zu erblicken.

Ueber die Immunisierung des Kaninchens gegen Hornhautsyphilis.

[Aus dem Institut für Hygiene der kgl. Universität Turin und dem Institut für Hygiene der kgl. Universität Parma.]

Von Prof. **E. Bertarelli.**

Die Möglichkeit, mit experimenteller Syphilis leicht zu handhabende Tiere zu infizieren, erlaubte ohne besondere Schwierigkeiten, wie sie z. B. von den Affen dargeboten wurden, nach der Frage über die Immunität gegen den Krankheitserreger der Syphilis selbst zu forschen.

Eine diesbezügliche zuerst zu lösende Frage war folgende: Verleiht die Hornhautsyphilis des Kaninchens, wenn sie heilt, dem Tiere eine lokale Immunität gegen Syphilis?

Die ersten von mir mit Kaninchen bei Anwendung von menschlichem Syphilisvirus ausgeführten Versuche hatten bewiesen, daß, nach-

dem eine Hornhaut infiziert worden und die typische Läsion erschienen war, eine weitere Infektion der anderen Hornhaut nicht mehr möglich war.

Als ich aber ein Virus anwenden konnte, welches durch Uebergang durch Kaninchen virulenter gemacht worden war, mußte ich mich davon überzeugen, daß sich die erwähnte Immunität, wenigstens innerhalb gewisser zeitlicher Grenzen, nicht erhielt, und daß die an einer Hornhaut mit Erfolg geimpften Kaninchen auch an der anderen Hornhaut infiziert werden konnten, auch wenn in der ersten bereits die typische Keratitis bestand.

Es mußte nun festgestellt werden, ob, nachdem die lokale Läsion ihre Evolution durchgemacht hatte, noch eine weitere Infektion desselben Tieres möglich war.

Meine Forschungen über diesen Gegenstand sind nicht sehr zahlreich: Da ich viele Hornhäute nötig hatte, um andere Versuche von Immunisierung und Infektion anderer Tiere auszuführen, mußte ich bei den meisten mit Syphilis infizierten Tieren die Hornhaut zu diesem Zwecke verwenden, und konnte nur bei wenigen die Hornhautläsion ihre ganze Evolution durchmachen lassen.

Meine Versuche erstrecken sich auf 3 Kaninchen: Zwei derselben wurden mit Virus 4. Passage und eins mit Virus 6. Ueberganges geimpft. Bei allen war die Syphilis auf beide Augen mit Erfolg eingeimpft worden. Als die zweite Einimpfung vorgenommen wurde, zeigten die Tiere keine sichtbaren Läsionen mehr: Bei zweien von ihnen waren nur leichte und wenig ausgedehnte, narbige, weißliche Flecke zu sehen.

Die zwei ersten Tiere waren seit mehr als 2 Monaten vollständig geheilt; das dritte zeigte seit 2 Wochen keine sichtbaren Läsionen mehr.

Die Einimpfung wurde in der gewöhnlichen Weise ausgeführt, indem in die Vorderkammer des Auges ein kleines Stück einer syphilitischen Hornhaut 7. Ueberganges eingeführt wurde.

Gleichzeitig wurden mit demselben Material 2 Vergleichstiere geimpft. Bei letzteren entwickelte sich nach 20 Tagen in beiden Augen eine typische syphilitische Keratitis.

Dagegen wurde bei zwei der anderen, schon einmal mit Syphilis infizierten und von derselben geheilten Tiere gar keine Läsion beobachtet, und in diesem Moment — es sind bereits seit der Impfung mehr als 2 Monate vergangen — hat man noch nicht den geringsten Hinweis auf irgend eine syphilitische Erscheinung gesehen. Bei dem dritten dieser Tiere kam es dagegen nach 1 Monat zu einer Infiltration der Hornhaut und es entwickelte sich eine typische Keratitis.

Es gibt also keine absolute lokale Immunität für die Augensyphilis des Kaninchens: Nur in einem Teile der Fälle reagiert die bereits infizierte und geheilte Hornhaut nicht mehr gegen das syphilitische Kaninchenvirus.

Es wurde der Versuch bei einem vierten Kaninchen wiederholt, aber dabei als Material zur Impfung eines bereits mit Virus 3. Ueberganges inokulierten und dann geheilten Kaninchens menschliches, von einer mukösen Papel herstammendes Virus angewendet.

Mit demselben Material wurde ein Vergleichskaninchen geimpft, welches an Syphilis erkrankte, während das andere keine Zeichen von Keratitis zeigte.

Dieser Versuch ist einzig, weshalb vorläufig jede Schlußfolgerung voreilig wäre; höchstens könnte man vermuten, daß ein an der Hornhaut

mit syphilitischem Hornhautvirus eines anderen Kaninchens infiziertes Kaninchen, wenn die Augenläsionen zurückgegangen sind, eine lokale Immunität gegen das menschliche Syphilisvirus aufweist.

Bei der Gelegenheit dieser Versuche und während ich andere Forschungen über die Komplementablenkung bei der Hundswut ausführte, habe ich das Serum der Kaninchen in Bezug auf seinen eventuellen Gehalt an Antikörpern für Syphilis prüfen wollen. Ich habe zwei Versuche angestellt und dabei als Antigen spirochätenreiche Hornhäute angewendet, welche ich fein zerrieben, 24 Stunden lang in einer physiologischen Kochsalzlösung infundiert und zuletzt zentrifugiert hatte.

Als Untersuchungsmaterial in Bezug auf die Antikörper brauchte ich:

1) das Serum eines Kaninchens, bei welchem die syphilitische Keratitis seit wenigstens 2 Monaten bestand und kaum den Beginn der Rückbildung zeigte;

2) das Serum eines zweiten, an einer sehr schweren syphilitischen Keratitis kranken Kaninchens, bei welchem seit 2 Wochen die syphilitischen Erscheinungen vollständig verschwunden waren.

Die Sera wurden in verschiedenem Quantum angewendet; ich lasse hier das Versuchsprotokoll aus, weil die Versuche einen negativen Ausgang hatten. Die Prüfung wurde bei Anwendung von sensibilisierten roten Ochsenblutzellen und von Meerschweinchenkomplement ausgeführt. Bei meinen Versuchen konnte ich nie im Kaninchenserum Antikörper nachweisen, woraus man schließen dürfte, daß tatsächlich, wenigstens in der größten Mehrzahl der Fälle, der Prozeß scharf lokalisiert bleibt.

Ich berichte hier den Versuch, obwohl er negativ war, nicht nur wegen des von ihm gebotenen Interesses, sondern auch, weil wahrscheinlich die syphilitischen Hornhäute sehr gut bei der biologischen Diagnose der Syphilis durch die Komplementablenkung angewendet werden können.

* * *

Ich habe auch mit Makakos (Inuus cynomolgus) ähnliche Immunisierungsversuche gemacht. Bei einem dieser Tiere, welches schon mit syphilitischem Kaninchenserum mit Erfolg inokuliert worden war, wurde zuerst die kutane Einimpfung von menschlichem Syphilisvirus und dann von Kaninchenvirus versucht; beide Versuche blieben aber erfolglos.

Bei einem zweiten Versuche handelte es sich um ein Tier (Makako), welchem schon Hornhautvirus mit Erfolg oberhalb eines Auges eingeimpft worden war. Ich versuchte nun bei ihm zuerst die kutane Impfung von menschlichem Syphilisvirus, jedoch ohne Erfolg, wonach ich die Einimpfung von Kaninchenvirus 7. Ueberganges in die Vorderkammer eines Auges versuchte. Es blieb aber auch dieser Versuch erfolglos.

Bei dem ersten Makako wurde die endookulare Impfung nicht versucht, weil noch eine seit 2 Monaten dauernde syphilitische Keratitis bestand.

Diese Versuche beweisen, daß die experimentelle, mit Kaninchenvirus erzeugte Syphilis dem Makako eine Immunität sowohl gegen das Kaninchenvirus wie gegen das menschliche Virus verleihen kann.

* * *

Es war nun von großem Interesse, danach zu forschen, ob es möglich sei, die Kaninchen durch subkutane oder auf anderem Wege durch-

geführte Inokulierungen mit syphilitischem Material gegen die Hornhautsyphilis zu immunisieren.

Meine diesbezüglichen Versuche sind nicht zahlreich, weshalb ihre Resultate mit Vorsicht gedeutet werden müssen. Da man die syphilitischen Hornhäute unter dem praktischen Standpunkte als wirkliche Kulturen von Spirochaete pallida ansehen kann, erschien es ohne Zweifel das zweckmäßigste, die Immunisierung des Kaninchens gegen die Hornhautsyphilis zuerst mit diesem Material zu versuchen.

Die Immunisierungsversuche auf subkutanem Wege wurden vorläufig auf kräftige Kaninchen beschränkt, welche mit in zweckmäßiger Weise bereiteten syphilitischen Hornhäuten geimpft wurden. Diese Hornhäute wurden fein zerschnitten, zerrieben und zu einer sehr feinen Masse reduziert, und diese Emulsion wurde unter die Haut inokuliert.

Die vier zu diesen Versuchen verwendeten Kaninchen wurden während der Zeitperiode von Anfang September bis Ende Februar 19mal und zwar mit zunehmenden Quantitäten des Materials inokuliert. Es wurde mit der Inokulierung von $^1/_4$ Hornhaut angefangen und die Menge immer erhöht, so daß bei der letzten Impfung 2 Hornhäute auf einmal injiziert wurden.

Die Hornhäute sind jedenfalls nicht immer in gleicher Weise lädiert, weshalb diese Zahlen nur zu einem annähernden Ausdruck der eingeführten Virusmengen dienen. Ich habe auch nicht alle zur Inokulierung verwendeten Hornhäute auf die Anwesenheit von Spirochäten geprüft; nur bei einigen Hornhäuten wurden die Spirochäten gesucht und sogar in Ausstrichpräparaten nachgewiesen. Es wurden jedoch immer zur Inokulierung Hornhäute verwendet, welche eine lebhafte Keratitis aufwiesen, so daß man annehmen kann, daß immer bedeutende Mengen von Spirochäten eingeimpft worden sind.

Nach Ablauf der 6 Monate dieser Behandlung habe ich bei den 4 Kaninchen die corneale Impfung versucht. 2 Tiere wurden mit Serialmaterial im März (4.) und zwei mit gleichem Material im April (2.) inokuliert.

Die Resultate kann man, wie folgt, zusammenfassen: Bei einem der beiden Kaninchen, welche gleich in die Hornhaut geimpft wurden, entwickelte sich nach einer sehr langen (40 Tage) Inkubation eine sehr ausgedehnte und schwere Keratitis.

Das zweite Kaninchen zeigte sich dagegen für die Einimpfung vollständig unempfänglich. Der Impfversuch wurde nach 2 Monaten (14. Mai) wiederholt, jedoch ohne Erfolg, wie auch ein dritter Versuch in dieser Richtung erfolglos blieb.

Von den anderen zwei im April inokulierten Kaninchen erkrankte das eine nach einer normalen Inkubationsdauer, während sich das zweite unempfänglich erwies. Bei diesem letzteren entwickelte sich aber im Juni zu meinem großen Erstaunen eine ausgesprochene, obwohl umschriebene Hornhautentzündung.

Danach scheint die Möglichkeit, eine lokale Immunität durch eine allgemeine Behandlung (wie es die subkutane ist) zu erzielen, eine sehr geringe.

Nun möchte aber festgestellt werden, ob das Kaninchen, welches sich der Einimpfung gegenüber unempfänglich erwiesen hat, tatsächlich immunisiert war oder zufälligerweise eine natürliche oder eine von anderen Ursachen abhängende Unempfänglichkeit besaß. Obwohl ich in meinen Statistiken auf einen Prozentsatz von 100 positiv ausgefallenen

Uebertragungen rechnen kann, muß man nichtsdestoweniger sehr skeptisch in dieser Hinsicht sein.

Höchstens kann man schließen, daß man durch eine subkutane Immunisierung des Kaninchens durch Einimpfung von syphilitischen Hornhäuten eine Verspätung in der Entstehung der Keratitis und somit eine Verlängerung der Inkubationsperiode bewirken kann; es scheint jedenfalls, daß man nicht auf eine tatsächliche Immunisierung auf diesem Wege viel Hoffnung legen kann, auch wenn die Behandlung lange Zeit fortgeführt wird.

Es sind auch andere Immunisierungsversuche angestellt worden, wobei zerriebene und erwärmte Hornhäute und mit Glycerin und Autolysaten in physiologischer Lösung behandelte Hornhäute verwendet wurden; die Resultate waren aber sehr entmutigend. In einzelnen Fällen erzielt man eine geringe, kaum bemerkenswerte Verlängerung der Inkubationsperiode, in vielen anderen Fällen kann man dagegen keine merkbare, der immunitären Behandlung zuzuschreibende Wirkung beobachten.

* * *

Bereits seit dem Sommer 1906 habe ich mich mit einer weiteren Frage beschäftigt: Sind die von syphilitischen Kaninchen geborenen Kaninchen gegen die Hornhautsyphilis immun?

Ich habe zu diesem Zwecke viele Tiere gebraucht, aber dabei eine fast allgemeine Erscheinung beobachtet: Die syphilitischen Kaninchenweibchen abortieren mit der größten Leichtigkeit oder die Geborenen sterben bald nach der Geburt. Bei den von mir bis jetzt untersuchten Föten habe ich nichts beobachten können, was man auf den syphilitischen Prozeß hätte zurückführen können; die Frage erheischt jedenfalls noch weiterer Forschungen.

Festgestellt ist, daß man, sowohl wenn man an einer syphilitischen Keratitis kranke Kaninchenweibchen befruchten läßt oder schwangere Kaninchenweibchen inokuliert, Kleine erhält, welche schwerlich lebensfähig sind.

Deshalb geht man bei den Forschungen über die syphilitische Keratitis dieser Tiere, welche doch den Affen gegenüber so viele Vorteile darboten, gewissen Enttäuschungen entgegen.

In einem einzigen Falle konnte ich von einem während der festgestellten Schwangerschaft inokulierten Kaninchenweibchen zwei Kleine erhalten, welche gerade, während die syphilitischen Erscheinungen bei der Mutter bestanden, geboren wurden. Die zwei Kleinen konnten sich retten, sie wiesen nichts Anormales auf: Im Alter von 3 Monaten wurden sie mit Hornhautsyphilis geimpft und erkrankten an einer Keratitis.

Daraus ist zu schließen, daß wenigstens für die Kaninchenweibchen mit frischer Hornhautsyphilis keine Immunität der Nachkommenschaft für Hornhautsyphilis besteht.

Das Tuberkulin.

[Aus dem Reichsseruminstitut zu Rotterdam (Direktor: Dr. J. Poels).]

Von **Hendrik E. Reeser.**

Geschichtliches.

Auf dem X. internationalen, vom 4.—9. August 1890 in Berlin abgehaltenen Kongresse machte Robert Koch[1]) seine berühmte Mitteilung, daß es ihm nach langem Forschen gelungen sei, einen Stoff zu finden, der nicht nur in vitro, sondern auch in vivo das Wachstum der Tuberkelbacillen verhindere. Weil seine Untersuchungen über jenes Mittel noch nicht beendet seien, könne er vorläufig nur mitteilen, daß mit diesem Stoff vorbehandelte Meerschweinchen bei Impfung mit tuberkulösem Material nicht mehr reagierten und daß bei Anwendung dieses Stoffes der Krankheitsprozeß sogar bei hochgradig tuberkulösen Meerschweinchen vollständig zum Stillstand gebracht werden könne. Weiter berichtete Koch[2]), daß der Stoff eine durchsichtige, braune Flüssigkeit sei, die ohne besondere Vorsichtsmaßregeln aufbewahrt werden könne. Vor dem Gebrauch müsse die Flüssigkeit verdünnt werden, was am besten mit einer 0,5-proz. Phenollösung geschehe. Vom Magen aus sollte das Mittel nicht wirken, nur bei subkutaner Anwendung erzielte man eine zuverlässige Wirkung. Der Mensch sei für das Mittel viel empfänglicher als das Meerschweinchen, denn einem gesunden Meerschweinchen könne man 2 ccm jener unverdünnten Flüssigkeit ohne eine Reaktion zu verursachen, einspritzen, während ein gesunder erwachsener Mensch durch eine Injektion von 0,25 ccm eine intensive Wirkung verspüre.

Von den Eigenschaften, die bei Mensch und Tier dieselben sind, nennt er als die wichtigste die spezifische Wirkung des Mittels auf den tuberkulösen Prozeß. Bei dem Menschen tritt nach einer Einspritzung von 0,01 ccm eine starke allgemeine und lokale Reaktion ein; die erstere besteht hauptsächlich aus einem Fieberanfall, der mit kalten Schauern beginnt und bei dem die Temperatur bis auf 41^{0} steigen kann, ferner Gliederschmerzen, Hustenreiz, Mattigkeit und bisweilen Erbrechen. Der Anfang tritt in der Regel 4—5 Stunden nach der Injektion auf und dauert 12—15 Stunden. Die lokale Reaktion, die am besten an Lupuskranken studiert werden kann, besteht vornehmlich in der Schwellung und Rötung der lupösen Stellen, was deutlich beweist, daß das Mittel eine spezifisch antituberkulöse Wirkung hat. Er hält es nicht für zu gewagt, anzunehmen, daß dieses Mittel künftig ein unentbehrliches diagnostisches Hilfsmittel sein wird, mit dem man in zweifelhaften Fällen beginnende Phthisis dann noch zu diagnostizieren imstande sein werde, wenn die klinische oder mikroskopische Untersuchung versagt. Die zweckmäßigsten Verdünnungen erhält man durch Zusatz von 9 ccm $^{1}/_{2}$-proz. Phenyllösung zu 1 ccm Flüssigkeit.

Wie Koch[3]) zu der Entdeckung des Mittels kam, berichtet er in

1) Koch, Robert, Ueber bakteriologische Forschung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. VIII. 1890.)

2) Koch, Robert, Weitere Mitteilungen über ein Heilmittel gegen Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. Extraausgabe No. 46a vom 13. Nov. 1890.)

3) Koch, Robert, Fortsetzung der Mitteilungen über ein Heilmittel gegen Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 3.)

seiner dritten Mitteilung, worauf ich aber in dieser Abhandlung nicht weiter eingehen werde. Ausgehend von seiner Beobachtung, daß, wenn tuberkulösen Meerschweinchen subkutan eine Mischung abgetöteter Tuberkelbacillen eingespritzt wurde, die Bacillen selbst an der Infektionsstelle liegen blieben und nicht resorbiert wurden und trotzdem Heilung eintrat, kam er zu dem Schlusse, daß der Stoff, der heilend auf den Krankheitsprozeß einwirkte, ein lösbarer, von den Körpersäften aus den Tuberkelbacillen extrahierter sein müsse. Nun handelte es sich darum, auch außerhalb des Körpers den heilkräftigen Stoff aus den Tuberkelbacillen zu extrahieren, und es ist ihm wirklich gelungen, mit einer 40—50-proz. Glycerinlösung den wirksamen Stoff aus den Bakterienleibern zu gewinnen. „Das Mittel, mit welchem das neue Heilverfahren gegen Tuberkulose durchgeführt wird, ist also ein Glycerinextrakt aus den Reinkulturen der Tuberkelbacillen.“ In diesen Extrakt gehen aus den Tuberkelbacillen außer dem wirksamen Stoffe auch alle übrigen in 50-proz. Glycerin löslichen Stoffe über, welche im übrigen für den menschlichen Körper unschädlich sind.

Hueppe und Scholl[1]) waren schon vor Kochs 3. Mitteilung zu der Vermutung gekommen, daß Kulturen von Tuberkelbacillen den Stoff geliefert haben müßten. Mit sterilisierten Peptonglycerinbouillonkulturen erzielten sie ungefähr dieselben, wiewohl etwas schwächere Resultate. Als sie später eine kleine Menge von Koch erhaltenen Stoff untersuchten, fanden sie in demselben einen großen Gehalt an Pepton (30 Proz.) und Glycerin. Da sie annahmen, daß Koch vor der Konservierung die Flüssigkeit eingedickt habe, kamen sie auf die Idee, die ihrige gleichfalls einzudicken und erhielten auf diese Weise einen Stoff, der äußerlich große Uebereinstimmung mit dem Kochschen Präparate zeigte und dieselbe Wirkung auf Versuchstiere ausübte. Der Unterschied zwischen dem von ihnen erhaltenen Präparat und dem Kochschen bestand darin, daß letzteres ein Glycerinextrakt von Tuberkelbacillen war, während erstere ihren Stoff durch Erwärmung von Glycerinpeptonbouillonkulturen bis zum Sieden erhalten hatten.

In ihrer 2. Mitteilung kommen sie zu dem Schlusse, daß der wirksame Stoff schon in der Kulturflüssigkeit anwesend sei und daß eine besondere „Extraktion“ durchaus unnötig erscheine. Die Eindickung, die Koch ohne Zweifel vorgenommen hatte, wie der hohe Salz- und Eiweißgehalt zeigte, konnte ebensowenig wie der Glycerinzusatz als maßgebend für die Schwerpunktwirkung des Stoffes betrachtet werden, da ja auch das nicht eingedickte Präparat gute Resultate gab; die Eindickung hatte nur den einzigen Vorteil, daß die Giftauflösung konzentrierter gemacht wurde.

Bujwid[2]) stellte eine Menge von Versuchen an, um das Kochsche Präparat aus Reinkulturen von Tuberkelkulturen darzustellen, und es gelang ihm wirklich, einen Stoff zu bereiten, dem er den Namen „Tuberkulin“ gab, einen Namen, den Koch später ebenfalls seinem Präparate beilegte.

Bujwid züchtete die Tuberkelbacillen in Glycerinbouillon bei 38° C. Wenn sie ein Alter von 3 Wochen erreicht hatten, sterilisierte er die Kulturflüssigkeit, indem er sie 3mal in Zwischenzeiten von 6 Stunden

1) Hueppe und Scholl, Ueber die Natur der Kochschen Lymphe. [1. Mitt.] (Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 4. [2. Mitt.] Ibid. 1891. No. 8.)

2) Bujwid, Odo, Die Darstellungsweise des Tuberkulins. (Gazeta lekarska. 1891. No. 4.)

während 10 Minuten in strömenden Wasserdampf bei 100° C brachte, dann durch einen von ihm etwas abgeänderten Pasteursches Filter filtrierte und sie im Wasserbade in einem luftverdünnten Raume eindickte.

Der Siedepunkt der Flüssigkeit schwankte bei einem Druck von 20 mm zwischen 30 und 40° C. Als die Flüssigkeit auf $^1/_4$ eingedickt war, bildete sich ein sehr dünner Niederschlag, der abfiltriert wurde. Die Flüssigkeit hatte schließlich die Konsistenz von Syrup. Die auf diese Weise erhaltene Flüssigkeit war etwas dünner als das Kochsche Präparat. Aus seinen Versuchen ging hervor, daß sein Tuberkulin um die Hälfte schwächer wirkte als das „Kochin".

Durch diese Mitteilung angeregt, wandte Karliński dasselbe Verfahren an, das Abfiltrieren durch das Pasteursche Filter unterblieb indessen, und die Flüssigkeit wurde auf $^1/_5$ eingedampft.

Die auf diese Weise erhaltene gelbe Flüssigkeit war aber stets noch dünner als das „Kochin".

Koch[1]) teilt in seiner 4. Mitteilung folgendes mit:

„Die Angaben, daß das Tuberkulin in den Tuberkelbacillenkulturen enthalten sei und daß man bei Versuchen zur Gewinnung des wirksamen Stoffes aus den Kulturen die Reaktion am Tiere stets als eine zuverlässige Kontrolle benutzen kann, hätte genügen sollen, um einen geschickten Bakteriologen zur Herstellung des Tuberkulins oder eines gleichwertigen Präparates zu befähigen. Wenn trotzdem nur ganz vereinzelte Bakteriologen sich an diese Aufgabe herangewagt und, soweit ich die weitschichtige Literatur zu übersehen vermag, dieselbe auch nur teilweise gelöst haben, so hat das eigentlich etwas Beschämendes für die heutigen Bakteriologen, welche anstatt selbständig experimentell vorzugehen, in ungestümer Weise nach einem Rezept zur Herstellung des Tuberkulins verlangen. Es ist mir überhaupt fraglich, ob die Art und Weise der Herstellung, wie ich sie befolge, schon die beste ist. Ich habe im Laufe der Zeit fortwährend daran verbessert und halte sie auch noch weiter für verbesserungsfähig, hoffe auch, daß sich noch ganz andere geeignetere Methoden werden auffinden lassen. Wenn ich daher jetzt, wo die Beurteilung der Tuberkulinfrage eine ruhigere und mehr objektive geworden ist, den richtigen Zeitpunkt für gekommen erachte, um meine Erfahrungen über die Herstellungsweise des Präparates zu veröffentlichen, so würde ich es sehr bedauern, wenn man sich sklavisch an meine Angaben halten und nicht versuchen würde, etwas Besseres zu schaffen.

Vorweg habe ich aber noch folgendes zu bemerken. Bei der Tuberkulingewinnung liegt der Schwerpunkt darin, daß man es versteht, die Tuberkelbacillen in Massen zu kultivieren. Ohne solche Massenkulturen ist an die Herstellung des Tuberkulins in nennenswerter Menge überhaupt nicht zu denken. Tuberkelbacillen in Massen zu kultivieren, ist aber nur einem geübten Bakteriologen möglich, der Ungeübte wird wohl auch Massenkulturen zu stande bringen, aber keine Reinkulturen; mit unreinen Kulturen wird er nichts als Unheil anrichten, und er sollte deswegen seine Hände lieber davon lassen.

Ursprünglich habe ich die Tuberkelbacillen auf Glycerinpeptonagar in Reagenzgläsern gezüchtet, die Kulturen, wenn sie den Höhepunkt der Entwickelung erreicht hatten, abgespült, auf einem feinen Drahtnetz gesammelt, mit einer 4-proz. Glycerinlösung übergossen, mit dieser Lösung

1) Koch, Weitere Mitteilung über das Tuberkulin. (Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 43.)

auf den zehnten Teil eingedampft, abfiltriert und das Filtrat verwendet. Die Züchtung auf Agar in Reagenzgläsern ist aber sehr mühsam und gibt verhältnismäßig wenig Ausbeute. Als es darauf ankam, größere Mengen zu schaffen, mußte daher versucht werden, größere Gefäße für die Kulturen zu benutzen, dabei ergaben sich aber Schwierigkeiten in der Verwendung des Nähragars und ich griff auf frühere Versuche zurück, die ich über die Züchtung der Tuberkelbacillen in flüssigen Nährmedien angestellt hatte.

Anfangs fielen die Kulturen wenig befriedigend aus: sie wuchsen in der Flüssigkeit sehr langsam und kümmerlich. Zufällig machte ich aber dann die Beobachtung, daß einzelne platte Stückchen der Bacillenkultur, welche an der oberen Fläche trocken waren und unbenetzt blieben, auf der Oberfläche der Flüssigkeit sich schwimmend erhielten und daß diese Stückchen sich in üppiger Weise entwickelten. Sie bildeten im Laufe von wenigen Wochen an der Oberfläche eine dieselbe vollkommen bedeckende, ziemlich dicke, oberwärts trockene und oft faltige Haut von weißlicher Farbe. Nach 6—8 Wochen ist das Wachstum beendet; die Haut fängt dann an, von der Flüssigkeit benetzt zu werden und sinkt schließlich, in lappenförmige Stücke zerfallend, unter. Der Ertrag einer solchen Kultur ist erheblich größer als der auf festem Nährboden erzielte.

Als Kulturflüssigkeit kann man ein Infus von Kalbfleisch benutzen, das in der gewöhnlichen Weise hergestellt wird. Dasselbe muß schwach alkalisch sein und einen Zusatz von 1 Proz. Pepton und 4—5 Proz. Glycerin erhalten. An Stelle des Kalbfleischinfuses kann auch eine 1-proz. Fleischextraktlösung verwendet werden.

Die Kulturgefäße, am besten Kölbchen mit flachem Boden, werden nur zur Hälfte, und zwar mit 30—50 ccm Flüssigkeit gefüllt, gut sterilisiert und dann so geimpft, daß ein nicht zu kleines Stück der Aussaatkultur auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmt. Die Kulturen werden am besten bei 38° C gehalten. In Bezug auf die Herkunft der zur Kultur benutzten Tuberkelbacillen habe ich keinen Unterschied gefunden. Für die Wirksamkeit des Tuberkulins ist es ganz gleichgültig, ob dasselbe mit frisch gezüchteten Kulturen oder mit mehrere Jahre alten hergestellt wird, ebenso ob die Kulturen direkt vom tuberkulösen Menschen gewonnen oder ob sie wiederholt durch den Tierkörper gegangen sind.

Bei dieser Art und Weise der Züchtung geht ein Teil des wirksamen Stoffes in die Kulturflüssigkeit über. Ich habe deswegen die Kulturen nicht mehr als wässerige Glycerinlösung, sondern gleich mit der Kulturflüssigkeit extrahiert, um so auch den in dieser enthaltenen Stoff zu verwerten. Daß auf diese Weise die Kulturen genügend extrahiert werden, geht daraus hervor, daß sie nach der Extraktion nur noch eine geringe Wirkung auf tuberkulöse Meerschweinchen auszuüben vermögen und daß die Kulturflüssigkeit, wenn sie auch ohne die Kulturen eingedampft wird, ein erheblich schwächeres Tuberkulin liefert.

Die zur Extraktion verwendeten Kulturen müssen vollkommen rein und 6—8 Wochen alt sein. Sie müssen selbstverständlich absolut rein sein, wovon man sich durch die mikroskopische Untersuchung jedes einzelnen Gefäßes überzeugen muß. Erst nach langer Uebung wird man im stande sein, auch ohne mikroskopische Untersuchung die Anwesenheit von Verunreinigungen durch fremde Mikroorganismen zu konstatieren, welch letzteren bekanntlich in flüssigen Nährmedien weit schwieriger als auf festen zu erkennen sind. Die vollkommen rein befundenen

Kulturen werden in einem geeigneten Gefäß auf dem Wasserbade auf den zehnten Teil ihres ursprünglichen Volumens eingedampft. Da sie hierbei stundenlang einer Temperatur von nahezu 100° C ausgesetzt bleiben, so kann man mit voller Sicherheit darauf rechnen, daß in der eingedickten Flüssigkeit die Tuberkelbacillen ausnahmslos abgetötet sind. Um die letzteren aber möglichst daraus zu entfernen, wird die Flüssigkeit durch ein Ton- und Kieselguhrfilter filtriert.

Das so gewonnene Tuberkulin enthält etwa 40—50 Proz. Glycerin und ist dadurch gegen Zersetzung durch Bakterien geschützt. Man hat nur darauf zu achten, daß sich nicht Schimmelpilze darauf ansiedeln. So verwahrt, hält es sich allem Anscheine nach sehr lange, vielleicht jahrelang, in wirksamem Zustande.

Baumgarten[1]) gelangt durch viele Tierversuche zu dem Schlusse, „daß dem Kochschen Mittel eine eigentliche Heilkraft gegen tuberkulöse Prozesse nicht zukomme", ja daß sogar „die fortgesetzte Behandlung mit dem Kochschen Mittel die Vermehrung und Verbreitung der Bacillen zu befördern geeignet ist".

An der Veterinärhochschule zu Dresden[2]) wurden im Auftrage der sächsischen Regierung Versuche angestellt, um festzustellen, ob und in welcher Dosis das Tuberkulin zur Erkennung der Anwesenheit der Tuberkulose beim Rindvieh Verwendung finden kann.

Bei allen Rindern wurde an der Injektionsstelle eine lokale Reaktion wahrgenommen, eine geringe Entzündung des Unterhautbindegewebes, die sich nach Verlauf von 12—24 Stunden zeigte, um nach 3—5 Tagen wieder zu verschwinden.

Eine allgemeine Reaktion, welche hauptsächlich in einer erhöhten Temperatur bestand, trat nur bei tuberkulösen Tieren auf. Auch wurde dabei beobachtet, daß die Temperaturerhöhung nicht der Ausdehnung der Tuberkulose proportional war.

Wurde die Tuberkulininjektion bei demselben Tier nach Verlauf von 4—5 Tagen wiederholt, so war die Temperaturerhöhung in der Regel geringer.

Die Operation wurde an der Seitenfläche des Halses gemacht, die Injektion wurde am Abend vorgenommen.

Eber[3]) hat 446 Rinder mit Tuberculinum Kochii eingespritzt, wobei er 15 Proz. Fehlergebnisse wahrnahm. Er kommt zu dem Schluß, daß wir im Tuberkulin ein ausgezeichnetes Mittel zur Erkennung der Tuberkulose beim Rindvieh besitzen. Als Dosis wurde 0,4—0,5 ccm des 9 bis 10mal mit $^1/_2$-proz. Karbollösung verdünnten Tuberkulins angegeben; er spritzte an der Seitenfläche des Halses ein. Der Abend ist die beste Operationszeit, da die charakteristische Reaktion nach Verlauf von 6 bis 8 Stunden auftritt; die Temperaturaufnahmen sind von der 6. bis zur 18. Stunde stündlich zu machen. Wenn die Temperatur nach der Injektion 39—39,5° C erreicht, so darf man erst von einer Reaktion sprechen, wenn die Differenz zwischen der gestiegenen und der ursprünglichen Temperatur mindestens 0,5° C beträgt. Besteht schon vor der

---

1) Baumgarten, Ueber die Einwirkung des Kochschen Mittels auf die Impftuberkulose der Kaninchen. (Internat. Beitr. z. wissenschaftl. Medizin. Bd. III. 1891.)

2) Versuche über die diagnostische Bedeutung des Tuberculinum Kochii bei Rindern. (Ber. über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen. 1890.)

3) Eber, A., Zusammenstellung der mit Tub. Kochii bei Rindern zu diagnostischen Zwecken angestellten Impfversuche. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XVIII. 1891.)

Injektion eine Temperatur von 40° oder darüber, so ist die Einspritzung kontraindiziert.

E. Klebs[1]) empfiehlt als Extraktionsmethode zur Gewinnung seines gereinigten Tuberkulins, aus dem die schädlichen Stoffe des rohen Tuberkulins entfernt sind, das Ausfällen des wieder in Wasser aufgelösten Alkoholniederschlages mittels eines Gemisches von Alcohol absolutus, Chloroform und Benzol. Eine bessere Methode ist das Ausfällen der Alkaloide. Das Tuberkulozidin, wie Klebs den wirksamen Stoff nennt, kann man durch Wasser aus dem Niederschlag extrahieren. Der Stoff soll, wie er meint, vollständig unschädlich sein, nie Fieber erregen und würde in kurzer Zeit eine bedeutende Besserung bei Schwindsüchtigen hervorrufen.

Helmann[2]) bereitete Tuberkulin vermittelst Kartoffelkulturen von Tuberkelbacillen. Dazu wurden die Kartoffeln zuerst in Kalkwasser gelegt und nach Abspülung im Wasser halb gesotten. Mit einem sterilen Messer wurden sie in zwei Hälften geschnitten, in eine $^1/_2$—1-proz. Na_2CO_3-Lösung getaucht, wieder abgespült und in kleinen Petrischen Schalen bei 120° C 20 Minuten lang sterilisiert. Vier von den Schalen wurden nun in eine große Schale mit feuchtem Filtrierpapier gestellt. Zur Kontrollierung der Sterilität wurden die Kartoffeln 3 Tage in den Brutschrank gebracht, darauf mit einer Tuberkelbacillenkultur geimpft, und zwar auf folgende Weise: Zuerst wurden Stückchen Kultur auf den Kartoffelscheiben ausgestrichen und darauf, um die Verteilung noch gleichmäßiger zu machen, befeuchtete er die Oberfläche mit einer Mischung von 4 Teilen Serum und 1 Teil Glycerinwasser (1 : 4). Nach 2 Wochen waren die Kulturen stark gewachsen. Es gelingt leicht, die Kolonieen von den Scheiben zu entfernen und zu einem Reinbacillenextrakt zu verarbeiten. Schon in den Jahren 1888—1889 versuchte er mit diesem Mittel Tiere zu immunisieren. Zur Gewinnung seines Präparates mischte er 1 Teil Bacillen mit 100 g Wasser oder 10 Teile Glycerin. Die Wirksamkeit seines Tuberkulins bei Injektionen war 4mal schwächer als das Kochsche.

In dem von ihm aus Kartoffelkulturen hergestellten Tuberkulin kamen nur Spuren von Eiweiß vor. Nach Hinzufügung von 40 Teilen Alcohol absolutus betrug der Niederschlag oft bis zu 1 Proz. (in dem Kochschen 10 Proz.). Präzipitat und Filtrat waren imstande, die Körpertemperatur bis auf 41° C zu erhöhen. Ebenso wirkte auch das Extrakt, aus dem jede Spur von Eiweiß entfernt worden war, mithin konnte das Eiweiß der wirksame Stoff nicht sein. Helmann ist der Ansicht, er habe den Beweis geliefert, daß der wirksame Bestandteil im Protoplasma der Bacillen sich befinde und somit unmöglich ein Umsetzungsprodukt des Nährbodens sein könne.

Klebs[3]) behauptet, daß das von ihm hergestellte Tuberkulocidin für therapeutische Zwecke besser als das Tuberkulin ist, da es die schädlichen Nebenwirkungen des letzteren nicht hat. Die Heilung mit seinem TC kann durch direkte schädliche Einwirkung auf die Bacillen vor sich gehen.

---

1) Klebs, E., Die Zusammensetzung des Tuberkulins. (Deutsche med. Wochenschr. 1891.)

2) Helmann, C., Des propriétés de la tuberculine provenant de bacilles tuberculeux cultivés sur pomme de terre. (Arch. des sciences biologiques publiées à Pétersbourg 1892.)

3) Klebs, E., Die Behandlung der Tuberkulose mit Tuberkulocidin. Hamburg 1892.

Spengler[1]) wollte die beiden Stoffe, das Klebssche TC. und das Kochsche T. kombinieren, und zwar im Verhältnis $^1/_{10}$ und $^1/_{15}$ mg T. und 5 und 20 mg TC.

Im biochemischen Laboratorium des Bureau of animal industry[2]) wird schon seit 3 Jahren das Tuberkulin bereitet und an die Versuchsstationen der Vereinigten Staaten von Nordamerika unentgeltlich abgegeben unter der Bedingung, daß man über die erzielten Resultate Bericht erstattet. Vor der Abgabe wird es stets an tuberkulösen Tieren auf seine Wirkung geprüft.

Hess[3]) beobachtete, daß die Rinder, welche klinisch die geringsten Erscheinungen zeigten, die stärkste Reaktion aufwiesen, indem bei abgemagerten und bei Tieren, die an generalisierter oder alter Tuberkulose litten, die Reaktion oft unterblieb. Er empfiehlt die Tuberkulininjektion nicht, denn 6 seiner Versuchsrinder starben nach der Injektion an akuter Miliartuberkulose; er warnt sogar vor dem Gebrauch derselben, weil es mitunter vorkomme, daß schlummernde Tuberkulose dadurch aufgeweckt wird. Weiter beobachtete er auch, daß Actinomykosis eine leichte Temperatursteigerung gab.

Malm[4]) spricht unter anderem über die Bereitung des Tuberkulins und teilt mit, daß man das Tuberkulin nicht allein aus Glycerinbouillonkulturen, sondern auch von Kulturen in Kartoffelextrakt und in eiweißfreier Flüssigkeit bekommen kann. Einen sehr guten Nährboden nennt er: Aqua dest. 500 g, Glycerin 25 g, Acid. tartar. 1,3 g, Amm. nitric. 1,3 g, Amm. phosph. 0,2 g, Kalium carbonic. 0,2 g, Magn. carb. 0,13 g, Amm. sulf. 0,08 g, Kaliumsilikat 3 Tropfen und Asparagin 5 g. In diesem und anderen eiweißfreien Nährmedien produziert der Tuberkelbacillus einen albumoseartigen Stoff, den man durch Alkohol ausfällen kann und der wahrscheinlich als der wirksame Stoff des Tuberkulins zu betrachten ist.

Nocard[5]) beschreibt die von ihm angewendete Herstellung des Tuberkulins: 6 Wochen alte, bei 37° C gezüchtete Tuberkelbacillenkulturen in 5-proz. Glycerinbouillon werden bei 110° sterilisiert und darauf auf einem Wasserbade bis auf ein Zehntel eingedampft und durch Papier abfiltriert. Die sirupartige Flüssigkeit enthält 50 Proz. Glycerin und kann infolgedessen in einem kühlen, dunklen Raum eine unbestimmt lange Zeit aufbewahrt werden. Vor dem Gebrauche wird das Tuberkulin mit 9 Teilen $^1/_2$-proz. Karbollösung verdünnt. Von dieser Verdünnung spritzt man den Rindern 3—4 ccm ein.

Eber[6]) ist auf Grund früherer Versuche zu der Ansicht gelangt, daß der Körper die Fähigkeit hat, aus bestimmten, nichtgiftigen in den Körper gebrachten Stoffen (toxigene Stoffe) Gifte auszuscheiden. Zu jenen toxigenen Stoffen gehört wahrscheinlich das Tuberkulin. Auf den gesunden Körper übt es keine Wirkung aus, aber in dem tuberkulösen erregt es Fieber. Diese fiebererregenden Stoffe, welche von Eber mit

---

1) Spengler, C., Vorläufige Mitteilung über eine kombinierte Tuberkulin-Tuberkulocidinbehandlung. (Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 14.)

2) Investigations concerning bovine tuberculosis. (Bull. No. 7. Washington 1894.)

3) Hess, E., Ueber den Wert des Tuberkulins in der Rindviehpraxis. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. VIII. 1894.)

4) Malm, O., Om Tuberkulin. Christiania 1894.

5) Nocard, Des injections révilatrices de la tuberculose. (Recueil de méd. vét. 1895. p. 72.)

6) Eber, W., Ueber das Wesen der sogen. Tuberkulin- und Malleinreaktion. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. XXI. 1895.)

dem Namen „Tuberkulopyrin" angedeutet werden, sind, seiner Meinung nach, unter dem Einfluß der erhöhten physiologischen Tätigkeit der Zellen im Körper aus dem Tuberkulin abgespalten worden.

Hess[1]) bleibt infolge seiner neueren Beobachtungen bei seiner Ansicht, daß durch die Tuberkulininjektionen sehr oft eine akute Miliartuberkulose entsteht. Er meint also, daß die Wirkung des Tuberkulins in zwei Teile zerfällt:

1) Reaktionsfieber, Störung des allgemeinen Wohlbefindens, Niedergeschlagenheit, Dyspnoe u. s. w.;

2) Entwickelung einer Miliartuberkulose und Verschlimmerung der schon bestehenden tuberkulösen Prozesse. Deshalb warnt Hess nochmals vor dem allgemeinen Gebrauch des Tuberkulins in der Praxis.

In der Tuberkulinfrage[2]) wurde auf dem VI. Kongresse zu Bern der folgende Antrag Bang-Nocard angenommen:

„Das Tuberkulin ist ein sehr schätzenswertes Diagnostikum und kann die größten Dienste im Kampfe gegen die Tuberkulose leisten. Es liegt kein Grund vor, aus Furcht vor einer Verschlimmerung der vorhandenen Krankheit vor seiner allgemeinen Anwendung zu warnen."

Grasset und Vedel[3]) erzielten mit dem Tuberkulin als Diagnostikum sehr günstige Resultate. Ihrer Ansicht nach sind die schlechten Ergebnisse, die man oft erhält, der Anwendung von zu großen Dosen zuzuschreiben.

Weber[4]) erstattet Bericht über den Wert des Tuberkulins als Diagnostikum bei der Rindertuberkulose. Daß bei einigen tuberkulösen Tieren keine Reaktion eintritt, ist ein Faktum, aber das geschieht bloß in Fällen hochgradiger Tuberkulose, welche gerade leicht an den klinischen Erscheinungen zu erkennen sind. Daß das Tuberkulin bei gesunden Tieren Reaktion erzeugen kann, ist eine Unwahrheit, denn bei Reaktion findet man bei genauer Untersuchung immer tuberkulöse Herde, sei es auch oft sehr kleine; daß nichttuberkulöse Krankheiten die Reaktion erwecken können, ist gleichfalls unrichtig und daß das Tuberkulin die Verbreitung der Tuberkelbacillen befördert, kann Weber ebenso wenig als richtig erkennen. Endlich fügt er noch hinzu, daß es auch falsch ist, daß die erste Infektion die Reaktion einer zweiten Einspritzung verhindert, denn nach einem Monat tritt die Reaktion auf eine zweite Injektion normal wieder ein.

Seiner Meinung nach ist das Tuberkulin ein ausgezeichnetes Mittel zur Diagnostik der Tuberkulose.

Kitt[5]) hat ebenso wie Malin intravenöse Injektionen mit Tuberkulin gemacht. Dieses Verfahren ist besonders empfehlenswert, wenn man schnell eine Reaktion erzielen will, denn diese tritt ja nach 5 bis 9 Stunden ein. Er bemerkt außerdem, daß das nicht eingedampfte, rohe Tuberkulin nach $2^1/_2$ Jahren noch ungeschwächte Wirksamkeit besitze.

---

1) Hess, E., Ueber den Wert des Tuberkulins in der Rindviehpraxis. (Schweizer landw. Jahrb. Bd. VIII. 1895.)

2) Verhandl. des 6. internat. tierärztl. Kongr. in Bern. 1895.

3) Grasset et Vedel, Du diagnostic précoce de la tuberculose humaine par les faibles doses de la tuberculine. (Bulletin de l'Acad. de méd. 1896. T. XXXV. No. 8.)

4) Weber, Rapport sur la valeur de la tuberculine comme moyen de diagnostic de la tuberculose bovine. (Bull. de l'acad. de méd. T. XXXV. 1896. No. 8.)

5) Kitt, Intrav. Tuberkulinproben. (Jahresber. d. kgl. Hochschule in München. 1895/96.



Auf dem 6. internationalen Kongreß zu Bern[1]) wurden Berichte über das Tuberkulin von Bang, Hess und Semmer vorgetragen. Hess und Guillebeau warnen vor dem Gebrauche des Tuberkulins, während Bang die günstigen Resultate der Tuberkulininjektionen in Dänemark aufzählte. Er wurde in seiner Ansicht unterstützt von Nocard, Malm, Butel, Feser, Hutyra. Es wurde der Antrag angenommen, daß das Tuberkulin ein ausgezeichnetes Diagnostikum ist, das zur Bekämpfung der Tuberkulose große Dienste leisten kann.

Von 515 Sektionsergebnissen entsprachen 50, somit 9,7 Proz., nicht den Injektionsresultaten. Nach der dänischen Vorschrift soll die Temperatur 9 Stunden nach der Einspritzung und von da an jede 2 oder 3 Stunden wieder gemessen werden bis 24 Stunden nach der Injektion.

Niemann[2]) erzeugte infolge Tuberkulininjektionen bei Tieren künstliche Immunität, so daß die darauf folgende Impfung mit virulenten Tuberkelbacillen keine Tuberkelinfektion verursachte. Diese künstliche Immunität ist aber schon nach 4—7 Wochen nach der Tuberkulininjektion verschwunden. Es scheint, daß diese Einspritzungen Antituberkulin im Blute bilden.

Robert Koch[3]) berichtet über neue Tuberkulinpräparate. Bei dem alten Tuberkulin bekommt man nur reine Toxin- und keine bakterielle Immunität, weil das Tuberkulin keine Tuberkelbacillen enthält. Deshalb stellte Koch ein Präparat, TA, d. h. alkalisches Tuberkulin dar, das aus den Tuberkelbacillen, nach einer 3 Tage langen Extraktion bei Zimmertemperatur mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge bessere Resultate gab als das Tuberkulin. Da dieses Präparat aber tote Tuberkelbacillen enthielt, die Abscesse verursachten, filtrierte er es durch Tonzellen, aber nun blieb auch eine gewisse Quantität der Kolloide auf dem Filter zurück und das auf diese Weise gewonnene Tuberkulin war nun nicht besser als das frühere. Endlich kam Koch auf den Gedanken, die Tuberkelbacillen mechanisch zu vernichten, so daß sie von den resorbierenden Elementen in dem Körper leichter aufgenommen werden konnten. Dazu wurden die gut getrockneten Kulturen in einem Achatmörser zerrieben, bis nur wenig Bacillen übrig blieben, die gefärbt werden konnten. Das auf diese Weise gewonnene Material wurde mit destilliertem Wasser gemischt und $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde (bei 4000 Drehungen per Minute) zentrifugiert, dadurch entstand eine obere, opaleszierende, helle Schicht ohne Tuberkelbacillen und ein ziemlich dicker Bodensatz. Dieser Niederschlag wurde getrocknet und von neuem mit Wasser zentrifugiert und das Verfahren so oft wiederholt, bis die ganze Tuberkelkultur in eine Reihe von durchsichtigen Flüssigkeiten verwandelt war. Die obere Schicht, welche nach dem ersten Ausschleudern entstanden war, wurde TO genannt und der weiter verarbeitete Rest TR. TO enthält die in Glycerin löslichen, TR die in Glycerin unlöslichen Teile der Tuberkelbacillen. TO hat ungefähr die Eigenschaften des gewöhnlichen Tuberkulins und entspricht fast vollständig dem TA, auch verursacht es für sich keine Abscesse. TR wirkt immunisierend.

---

1) Die Bedeutung des Tuberkulins für die Diagnose der Rindertuberkulose und seine Verwendung zur rationellen Bekämpfung derselben. (Ber. über die Verhandl. des 6. internat. tierärztl. Kongr. in Bern. 1896.)

2) Niemann, Ueber Immunität gegen Tuberkulose und Tuberkuloseantitoxin. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. 1896. No. 6 u. 7.)

3) Koch, Robert, Ueber neue Tuberkulinpräparate. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 14.)

Bei der Verwendung des TR suchte Koch die Temperatursteigerung des Körpers so viel wie möglich zu vermeiden und er war bestrebt, durch allmähliche Steigerung der Dosis die Kranken gegen das TR und, wie er meint, auch gegen die Tuberkelbacillen zu immunisieren. Ein gegen TR immunisierter Mensch reagiert auch nicht mehr auf das Tuberkulin TO. Wegen der großen Gefahr wurden die Präparate TR und TO in Höchst mechanisch gemacht und mit 20 Proz. Glycerin konserviert. Die Flüssigkeit enthält auf 1 ccm 10 mg Trockensubstanz und muß vor der Verwendung mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt werden. Koch fängt mit $^1/_{500}$ mg an und steigt in der Regel bis auf 20 mg. Schließlich teilt er noch mit, daß er eine weitere Verbesserung der Präparate kaum für möglich halte.

Buchner[1]) hat Tuberkelbacillen auf ähnliche Weise wie Koch behandelt. Dieser hat die Bacillen zuerst getrocknet, dann zerrieben und nachher mit Wasser behandelt, Buchner dagegen die Tuberkelbacillen im feuchten Zustande zerrieben und dann unter hohem Druck ausgepreßt, also nur mechanisch bearbeitet. Kochs Behauptung, daß weitere Verbesserungen kaum zu erwarten seien, nennt er voreilig.

Trudeau und Baldwin[2]) beweisen, daß TR bisweilen ein sehr gefährliches Mittel sein kann, weil es oft lebende Tuberkelbacillen enthält. Die von Koch angegebene Bereitungsweise hat zwei große Nachteile:

1) Verunreinigung durch andere Bakterien;

2) das Zurückbleiben von Tuberkelbacillen durch ungenügendes Zentrifugieren.

Die Tatsächlichkeit beider Nachteile haben sie durch Experimente bewiesen. Weiter teilen sie mit, daß sie das TR nach der Kochschen Methode dargestellt haben, daß es aber sehr schwierig war, die Tuberkelbacillen durch Zentrifugieren zu entfernen. Koch behauptet, daß ein $^3/_4$ Stunden langes Zentrifugieren mit 4000 Drehungen pro Minute hinreicht, um alle Bakterien herauszuschleudern, aber sie zeigten, daß man sich auf die Ausscheidung nicht immer verlassen kann, selbst nicht nach 1 Stunde, bei Verwendung einer elektrischen Zentrifuge. Um ganz sicher zu sein, daß alle Bakterien entfernt sind, muß man 36 Stunden lang zentrifugieren.

Spengler[3]) versteht unter „Originaltuberkulin TO“, die filtrierte nicht eingedickte Bouillon, welche den Tuberkelbacillen zur Bildung einer kräftigen, auf der Oberfläche liegenden Decke als Nährboden gedient hat. Zur Abtötung der durch das Filter hindurchgegangenen Tuberkelbacillen wurde das Filtrat mit einer $^1/_2$-proz. Karbollösung gemischt. Das ebenfalls von ihm verwendete TOV ist das TO, das ohne Karbollösung auf $^1/_{10}$ eingedampft ist. Mit diesem Originaltuberkulin behandelte tuberkulöse Meerschweinchen sollen länger am Leben bleiben. In beiden Präparaten sieht Spengler sehr wirksame antituberkulöse Stoffe.

Klebs[4]) teilt weiter mit, daß eine Hinzufügung von fein pulveri-

1) Buchner, H., Zu Robert Kochs Mitteilung über neue Tuberkulinpräparate. (Berl. klin Wochenschr. 1897.)

2) Trudeau and Baldwin, The need of an improved technic in the manufacture of Kochs "TR"-Tuberculin. (New York med. News. August 1897.)

3) Spengler, Ueber die Behandlung tuberkulöser Meerschweinchen mit Originaltuberkulin. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVI. 1897.)

4) Klebs, On the development of the causal treatment of tuberculosis. (Journal of the American med. Assoc. Vol. XXIX. 1897.)

siertem Magn. carb. bei der Bereitung von TR die Ausscheidung der etwaigen nicht zerriebenen Tuberkelbacillen bei der Zentrifugierung begünstigt.

Maragliano[1]) ist durch die Resultate seiner Untersuchungen über das Neu-Tuberkulin zu der Ansicht gekommen, daß die Wirkung des Alt- und Neu-Tuberkulins dieselbe ist. Er fügt hinzu, daß die häufige Trübung des Neu-Tuberkulins den Pilzen und dem Proteus zuzuschreiben sind, deshalb steht das neue Präparat gegen das alte zurück.

Nocard[2]) bespricht die Angewöhnung der Tiere an die Tuberkulininjektionen. Erst nach Verlauf eines Monates kehrt bei den Tieren die Fähigkeit, auf Einspritzungen zu reagieren, zurück. Mit einem speziellen Rouxschen Tuberkulin ist dieser Nachteil zu beseitigen.

Beck[3]), der sich als Kochs Mitarbeiter an der Bereitung des TR beteiligt hat, verteidigt das neue Präparat; eine Verunreinigung, speziell mit Tuberkelbacillen, kann seiner Ansicht nach sehr wohl vermieden werden. Durch Versuche an Meerschweinchen hat er den Beweis zu liefern versucht, daß man mit TR ganz bestimmt gegen Tuberkulose immunisieren und den fortschreitenden Prozeß zum Stillstand bringen kann.

Baumgarten und Walz[4]) haben mit dem TR Versuche angestellt und speziell die kurative Wirkung kontrolliert. In den mit Korkpfröpfchen geschlossenen versandten Fläschchen mit TR fanden sie, ebenso wie andere Untersucher, Pilze, Staphylokokken und Stäbchen, aber keine Tuberkelbacillen. Aus ihren Versuchen mit 34 Kaninchen und 18 Meerschweinchen ging hervor, daß die Verwendung kleiner Dosen zur Immunisierung kein Resultat gibt und daß die Nachteile im Verhältnis der Vergrößerung der Dosis steigen. Zu einem entgegengesetzten Resultat kam Zimmermann; zu demselben Resultat Huber und Stroebe.

Ostertag[5]) zählt die Tiere auf, die auf Tuberkulin reagieren. Der Verdacht der Tuberkulose ist gegeben, wenn nach einer Einspritzung die Körpertemperatur 39,5° C überschreitet und deren Steigerung nach der Injektion mindestens 0,5° C beträgt. Bei 6 Monate alten Kälbern ist als Reaktion eine Blutwärme von über 40° C, vorausgesetzt, daß der Unterschied vor und nach der Injektion gleichfalls mindestens 0,5° C beträgt, anzusehen.

Hutyra[6]) gibt als positive Reaktion an:

1) Eine Steigerung der Temperatur von 1,5° C und mehr, oder über 40° C und dann muß dieselbe mindestens 0,5° C betragen.

2) Eine Steigerung der Temperatur von 1—1,4° C mit organischer Reaktion. Gesunde Tiere, welche eine Reaktion von 1,4° C zeigen und deren Temperatur 39,5° C nicht überschreitet und welche auch keine organische Reaktion zeigen, sind als frei von Tuberkulose zu betrachten.

---

1) Maragliano, Recherches sur la nouvelle tuberculine de Koch. (Compt. rend de la Soc. de biol. 1897.)

2) Nocard, Sur l'accoutumance à la tuberculine. (Bull. de la Soc. centr. de méd. vét. T. LI. 1867.)

3) Beck, M., Ueber das neue Tuberkulin TR. (Deutsche med. Wochenschr. Therapeut. Beil. 1898.)

4) Baumgarten und Walz, Ueber den Heilwert des neuen Kochschen Tuberkulins nach Experimenten an tuberkulös infizierten Kaninchen und Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXIII. 1898. No. 14.)

5) Ostertag, Was ist als typische Reaktion nach Einspritzung des Tuberkulins anzusehen? (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1898.)

6) Hutyra, Tuberculin-Kisertek. (Veterinarius. 1898. No. 23/24.)

Maragliano[1]) erhielt einen wässerigen Extrakt, indem er bei 90° bis 95° C auf einem Wasserbad 2 Tage lang Tuberkelkulturen digerierte. Den Stoff nannte er „wässeriges Tuberkulin“ öder „wässeriger Auszug“ der Tuberkelbacillen. Da zur Konservierung nur 5 Proz. Glycerin nötig ist, hat dieses wässerige Tuberkulin also einen viel niedrigeren Glyceringehalt als das alte Tuberkulin. Kontrollversuche zeigten, daß das Wasser aus den Bacillenkörpern viel mehr Gift extrahiert als das Glycerin. Maragliano findet eine analoge Wirkung zwischen seinem wässerigen Tuberkulin und den anderen.

Johne betont wiederholt, daß, wenn man nach positiver Tuberkulinreaktion bei der Sektion keine Tuberkulose finden kann, man nicht ohne weiteres auf ein Fehlergebnis schließen darf. Man darf verlangen, daß in solchen Fällen zuerst das ganze Tier in millimetergroße Stückchen zerlegt und dieselben mikro- und makroskopisch untersucht werden, um zu sehen, ob sie keine Tuberkeln enthalten.

Lanzillotti-Buosanti[2]) führt das Ausbleiben der Reaktion zurück auf 1) hochgradige Tuberkulose, 2) Verkalkung der Tuberkel, 3) jugendliches Alter unter einem Jahr, 4) eine vorhergehende Tuberkulininjektion innerhalb der letzten 25—30 Tage, 5) Temperaturdifferenzen, welche durch äußere Umstände, z. B. Eisenbahnbeförderung, vor der Impfung hervorgerufen waren. Die Verabreichung von Salicylsäure oder Antifebrin einige Tage vor der Injektion soll die Tuberkulinreaktion verhindern.

Baldenius[3]) glaubt, daß die Tuberkulininjektion das Leiden oft verschlimmert und bisweilen einen schnellen Tod herbeiführen kann.

Penrose[4]) stellte an Menschen Untersuchungen mit Tuberkulin aus Menschen- und Rindertuberkelbacillen an und erhielt mit beiden dieselbe Reaktion, doch wirkte das Rindertuberkulin etwas stärker.

Fuld[5]) schlägt eine einigermaßen veränderte Tuberkulinbehandlung vor. Weil das aus Menschentuberkelbacillen gewonnene Tuberkulin seine Eigenschaften bei der Behandlung von Menschen viel weniger zur Geltung bringt als bei der Immunisierung des Rindes, so schlägt er vor, beim Menschen Tuberkulin aus Rindertuberkelbacillen zu verwenden.

Denys[6]) filtrierte die Bouillonkulturen durch Tee. Das auf diese Weise hergestellte Tuberkulin unterscheidet sich von dem alten Kochschen Tuberkulin durch die Eigentümlichkeit, daß es nicht erwärmt wird, und vom TR dadurch, daß es keine Bakterienkörper enthält.

---

1) Maragliano, Der wässrige Auszug der TB und seine Derivate. (Berliner klin. Wochenschr. 1899. No. 18.)

2) Lanzillotti-Buosanti, Der augenblickliche Stand der Tuberkulinfrage und die neuen Forderungen bezüglich der Handelsmilch. (La clinica veterin. Vol. XXIV. 1901.)

3) Baldenius, Tuberkulose des Quarantäneviehes. (Berliner tierärztl. Wochenschrift. 1901. No. 4.)

4) Penrose, Tuberculin obtained from the bovine tubercle bacilli contrasted with tuberculin obtained from the human tubercle bacilli, in their effects on human patients. (Journ. of Tub. Vol. IV. 1902.)

5) Fuld, Gedanken über die Prophylaxe und Therapie der Tuberkulose. (Tierärztl. Monatsh. Bd. XII. 1902.)

6) Denys, De l'action curative des bouillons filtrés du bacille tuberculeux dans la tuberculose pulmonaire. (Bull. de l'acad. de méd. de Belg. 1902. No. 3.)

(Schluß folgt.)

Ueber die immunisierende Kraft der normalen Nervensubstanz, verglichen mit der Wutnervensubstanz, der Wut gegenüber.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Sassari.]

Von Prof. **Claudio Fermi.**

Nach dem gegenwärtigen Stande der Wissenschaft soll die normale Nervensubstanz ohne irgend welche immunisierende Kraft gegen die Wut sein. Während Babes mittels Einspritzungen normaler Nervensubstanz zwei durch fixes Virus subdural infizierte Hunde rettete, erzielten die verschiedenen anderen Forscher, die diese Versuche an zahlreichen Tieren kontrollierten, vollständig negative Resultate.

Wir lassen hier kurz den Versuch von Babes und jene seiner Widersacher folgen:

Versuch von Babes[1]). 3 sub dura mit fixem Virus infizierte Hunde erhielten 10 Tage hindurch täglich 5 ccm Hammelhirnemulsion.

Resultat. Einer der 3 Hunde starb mit einer Inkubationsperiode von 20 Tagen und 2 blieben am Leben. Der Kontrollhund verendete nach 15 Tagen.

Wie man also sieht ist ein mit 3 Hunden angestellter Versuch nicht ganz ausreichend, um eine so wichtige und schwere Frage zu lösen, wie es die vorliegende ist, und dies um so mehr, da eines dieser Tiere zu Grunde ging und das Kontrolltier erst nach 15 Tagen verendete, was bei sub dura mit fixem Virus infizierten Tieren nicht häufig vorkommt.

Man füge dem hinzu, daß der Verfasser bei Kaninchen negative und unsichere Resultate erzielte.

Diesen Resultaten von Babes stehen, wie ich wiederhole, vollständig die durch die Versuche von Aujeszky, Calabrese, Galavielle und Rimbaud erhaltenen gegenüber.

Versuche Aujeszkys[2]). 5 Hunden wurden 10 Tage lang täglich zweimal 10 ccm Markemulsion von einem gesunden Ochsen eingespritzt. Dann wurden sie mit Passagevirus auf endokularem Wege infiziert, hierauf wird die Immunisierung fortgesetzt, wie oben angegeben, und zwar 14 Tage hindurch, indem in den 32 Tagen jedem Hunde 30 g Mark eingespritzt wurden.

Resultat. Die Tiere überstanden eine erste Infektion, gingen aber bei einer zweiten zu Grunde.

Man sieht also, und Aujeszky selbst gibt es zu, daß das Resultat vollständig negativ war, obwohl der Verf. seine Tiere mit einer nicht weniger als 13mal so großen Impfstoffmenge, als die von Babes angewandte war, behandelt hatte. In der Tat soll Babes, wenn ich nicht irre, in 10 Tagen jedem Hunde 50 ccm Impfstoff, Aujeszky in 32 Tagen 640 ccm eingeimpft haben. Zu bemerken ist noch, daß dieser Verf. nicht, wie Babes, den subduralen, sondern den endokularen Weg wählte.

Daß die Hunde Aujeszkys die erste endokulare Infektion überwunden haben, hat keinen Wert, da dies bisweilen auch bei den Kontrollen vorkommt.

Doch vergessen wir nicht, daß dieser Verf. bei Kaninchen vollständig negative Resultate erzielte. Es ist daher nicht zu verwundern, wenn er den beiden positiven Resultaten von Babes jeden Wert abspricht.

Versuche von Calabrese[3]). Dieser Verf. infizierte seine Tiere mit Passagevirus auf endokularem Wege und behandelte sie sodann 3—10 Tage lang mit 0,5—1 g

---

1) Babes, Sur le traitement de la rage par l'injection de substance nerveux normale. (Compt. rend. de l'acad. de sc. T. CXXVI. 1898. p. 986.)

2) Aujeszky, Ueber Immunisierung gegen Wut mit normaler Nervensubstanz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXVII. 1900. p. 5.) — Immunisierung gegen Tollwut mit normaler Hirnsubstanz. (Orvosi Hetilap. No. 44. p. 554.). — Erwiderung auf die Bemerkungen des Herrn Prof. Babes über die Beeinflussung der Wut durch normale Nervensubstanz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXVIII. 1900. p. 177.)

3) Calabrese, Semaine méd. 1899. p. 39. — Clinica moderna. 11. u. 12. Jan.

normaler Nervensubstanz pro 1 kg Körpergewicht; er behandelte 12 Kaninchen mit Emulsion von Schafhirn, 10 Kaninchen mit Kaninchenhirn und 5 Kaninchen sowie 3 Hunde mit Hundehirn.

Die von Calabrese erzielten Resultate waren vollständig negativ; sämtliche Tiere starben an der Wut.

Versuche von Galavielle und Rimbaud[1]). Diese beiden Verf. injizierten auf subkutanem und peritonealem Wege 8 Kaninchen in einem Zeitraum von 11 Tagen täglich 3 ccm Emulsion von Hammelhirn; 2 Hunden injizierten sie die gleiche Emulsion 12 Tage hindurch, nämlich 5 ccm täglich. Hierauf infizierten sie 8 Kaninchen auf subduralem Wege, teils mit fixem Virus, teils mit Straßenvirus und die Hunde auf endokularem Wege.

Das Resultat war, daß sämtliche Tiere an der Wut zu Grunde gingen und daß man bei den mit Straßenvirus infizierten Tieren nur eine Verspätung von einigen Tagen hatte.

Außerdem konnten weder die Versuche von Babes, noch jene seiner Gegner die vorliegende Frage lösen, da genannte Verff. wegen Mangels an Tieren, die auf subkutanem Wege für die Wut empfindlich waren, gezwungen waren, ihre Versuche nur mit Tieren anzustellen, die nur auf subduralem und endokularem Wege infiziert worden waren, wogegen bekanntlich fast immer sogar der Pasteursche Impfstoff ohnmächtig ist. Es genügt, einen Blick auf die mit diesem Impfstoff angestellten Immunisierungsversuche zu werfen, um sich hiervon vollständig zu überzeugen.

Versuche von Frisch. 15 subdural mit Straßenvirus infizierte Kaninchen, die dann mittels 14 Injektionen mit Pasteurschem Impfstoff von M 1 bis M 15 geimpft wurden, starben sämtlich mit den Kontrolltieren an der Wut.

3 subdural mit Passagevirus infizierte und dann mit Pasteurschem Impfstoff geimpfte Hunde starben nebst 2 Kontrolltieren.

13 mit Pasteurschem Impfstoff von M 1 bis M 15 geimpfte und dann mit Straßenvirus subdural infizierte Kaninchen starben alle an der Wut.

Versuche von Högyes. 6 subdural mit Straßenvirus infizierte und dann mit Högyes-Impfstoff behandelte Hunde starben mit 3 Kontrolltieren.

16 subdural mit Straßenvirus und fixem Virus infizierte Kaninchen und 8 Hunde, die dann mit Pasteurschem Impfstoff von M 1 bis M 10 geimpft wurden, starben alle, mit Ausnahme eines einzigen, an Wut.

5 mit Högyes-Impfstoff geimpfte und dann subdural mit fixem Virus infizierte Hunde starben alle an der Wut.

Auch Celli und De Blasi erzielten vollständig negative Resultate.

Das Gleiche ist zu sagen von De Benzi, Kraus, Keller und Clairmont.

Von 14 subdural mit Straßenvirus und fixem Virus infizierten, von mir mit Pasteurschem Impfstoff, sogar 20—30 Tage hindurch behandelten Hunden konnte nicht einer gerettet werden.

Die bisher in Bezug auf die normale Nervensubstanz angestellten Versuche beweisen somit, daß diese keine stärkere immunisierende Wirkung ausübt, als dis Wutnervensubstanz.

Abgesehen von den Versuchen von Babes und seiner Gegner ließen einige Tatsachen in mir den Verdacht rege werden, daß ein großer Teil der immunisierenden Wirkung des Pasteurschen Impfstoffes der normalen Nervensubstanz zuzuschreiben sei.

Diese Tatsachen wären folgende:

1) Daß sämtliche bisher beim Menschen und bei den Tieren angewandten Anti-Wutimpfstoffe, obwohl dieselben bisweilen in ganz verschiedener Art zubereitet wurden, ungefähr die gleichen Resultate abgaben. So z. B. das mittels Austrocknen des Virus erlangte Pasteursche Vaccin, der mittels frischem, fixem Virus bereitete Impfstoff Ferráns, der ebenfalls mittels frischem, fixem, aber sehr verdünntem Virus zubereitete Impfstoff von Högyes, der mit bis zu verschiedenen Temperaturen (30—80° auf 10 Min.) erwärmtem fixen Virus zubereitete Impfstoff Puscariu, sowie der von Valli und Centanni durch Behandlung des Virus mit Magensaft bereitete.

Auch ich habe nachweisen können, daß die Impfwirkung ungefähr

1) Galavielle et Rimbaud, Montpéllier méd. T. XXIII. 1906.



gleich ist, mag es sich um fixes Virus mit Quecksilberverbindungen (Sublimat, Hermophenyl), mit Silberverbindungen (Kollargol, Protargol, Aktol), oder mit Anilinfarben (Larycith, Methylenblau), mit Thymol oder mit Karbolsäure handeln.

2) Daß es keine wahren Wuttoxine gibt, was übrigens mit der wahrscheinlichen Natur des Virus übereinstimmt. Die leicht toxische Kraft der Wutnervensubstanz ist in der Tat jener der normalen Nervensubstanz gleich.

Zur Lösung der interessanten Frage war es nun unumgänglich notwendig, die Versuche mit einer großen Anzahl von gegen das fixe und das Straßenvirus auf subkutanem Wege empfänglichen Tieren anzustellen, die immunisierende Minimaldose der beiden Substanzen, die Wirkung der von den mit normaler und Wutnervensubstanz behandelten Tiere erlangten Sera zu vergleichen, und dies habe ich in vorliegender Arbeit versucht.

Meine Versuche wurden somit folgendermaßen vorgenommen:

I. Immunisierende Wirkung der hypodermisch frisch injizierten normalen und Wutnervensubstanz.

II. Vergleich mit der Wirkung anderer Organe.

III. Immunisierende Wirkung der normalen und Wutnervensubstanz unter starker Verdünnung auf hypodermischem Wege verabreicht.

IV. Einfluß des Austrocknens auf die immunisierende Kraft der subkutan eingegespritzten normalen und Wutnervensubstanz.

V. Vergleich der immunisierenden Kraft der normalen frischen Hirnemulsion mit Pasteurschem Impfstoff.

VI. Einfluß der Erwärmung auf 75, 98, 100° C auf die immunisierende Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz.

VII. Immunisierende Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz der Wirkung des natürlichen und des künstlichen Magensaftes ausgesetzt.

VIII. Immunisierende Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz per os verabreicht.

IX. Immunisierende Kraft der mit 3 Prom. Salzsäure behandelten und per os verabreichten normalen und Wutnervensubstanz.

X. Immunisierende Kraft der auf endorektalem Wege verabreichten normalen und Wutnervensubstanz.

XI. Immunisierende Wirkung des Serums von Hunden, die mit einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von normaler und Wutnervensubstanz behandelt worden waren.

XII. Immunisierende Wirkung des Serums von Hunden, die mit normaler und Wutnervensubstanz behandelt worden waren, welche nach einer gewissen Zeit, nach der Infektion mit fixem Virus, eingespritzt wurde.

XIII. Immunisierende Wirkung des Serums der Hunde, die mit normaler und Wutnervensubstanz behandelt worden waren, und welche nach einer gewissen Zeit nach erfolgter Infektion durch Straßenvirus eingespritzt wurden.

XIV. Immunisierende Kraft des Blutserums vom gesunden Tiere.

XV. Immunisierende Kraft des Serums von Tieren, die mit normaler und Wutnervensubstanz, mit Impfstoff vermischt, immunisiert worden waren.

XVI. Neutralisierende Wirkung des Serums immunisierter Tiere (mit einer Emulsion normaler und Wutnervensubstanz) auf frisches, fixes Virus in vitro.

XVII. Unterschied zwischen der immunisierenden Wirkung der normalen Nervensubstanz, je nach der Gattung der Tiere.

Gehen wir nun zur Entwickelung der einzelnen Punkte über.

I. Immunisierende Wirkung der frischen normalen und Wutnervensubstanz, 10 Proz. auf hypodermischem Wege zugeführt.

I. Serie.

a) Normale Nervensubstanz vom Lamm.

Versuch 1, 18. Mai 1906. An 3 schwarzen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten werden sogleich 2 Einspritzungen, täglich je von 1 ccm, 20 Tage hindurch vor-

genommen, im ganzen 40 ccm. Emulsion vom Hirn eines gesunden Lammes 10 Proz., mit Karbolsäure 1 Proz.

Resultat. Sämmtliche Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch, 18. Mai 1906. 2 schwarze Ratten werden mit Straßenvirus injiziert.

Resultat. Eines der Tiere zeigt am 20. Mai Paralyse und stirbt am 30. Mai, also 15 Tage nach Inokulation, an der Tollwut.

Versuch 2, 25. Juli 1906. 10 schwarzen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten werden sofort 15 Tage lang 2 Einspritzungen täglich von 1 ccm, also im ganzen 30 ccm, von einer Emulsion von gesundem Lammhirn 10 Proz. + Karbolsäure 1 Proz. gemacht.

Resultat. Eine Ratte stirbt ohne Paralyse nach 2 Tagen, eine andere stirbt nach 17 Tagen ohne Wuterscheinungen und die anderen 8 bleiben am Leben.

Versuch 3, 7. Sept. 1906. 10 weißen, subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten wurden sofort 15 Tage lang 2 Einspritzungen täglich zu 1 ccm, im ganzen also 30 ccm, einer Emulsion von gesundem Hirn eines Lammes, 10 Proz. + Karbolsäure 1 Proz. verabreicht.

Resultat. Die Tiere bleiben alle am Leben. Am 4. Febr. 1907 wurden sie subkutan mit fixem Virus infiziert und bleiben auch jetzt am Leben.

Versuch 4, 22. Mai 1907. 5 weißen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten werden täglich 2 Einspritzungen von 1 ccm 15 Tage hindurch von einer mit Karbolsäure 1 Proz. versetzten Emulsion von frischem Gehirn eines gesunden Lammes, im ganzen 30 ccm Emulsion, verabreicht.

Resultat. Eines der Tiere wurde nach einem Monat tot vorgefunden, nämlich am 22. Juni, die anderen blieben am Leben.

Versuch 5, 1. Juli 1907. 10 weißen, subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten werden sofort 2 Einspritzungen, je 1 ccm, 15 Tage hindurch (im ganzen 30 ccm) von frischem Hirn eines gesunden Lammes verabreicht.

Resultat. Die Tiere bleiben alle (mit Ausnahme von 2, von denen das eine am 18. Juli 4 Uhr nachm., das andere am 19. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung aufweisen) am Leben.

Ob die leichte Inferiorität der Resultate dieser beiden Versuche der größeren Verdünnung des Impfstoffes (5 Proz. anstatt 10 Proz.) zuzuschreiben ist, ist zu beweisen.

Kontrollversuch, 7. Sept. 1907. 5 schwarze Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert, ohne sie dann zu immunisieren.

Resultat. Die Tiere werden am 17. Sept. 5 Uhr abends paralytisch und sterben alle an der Wut am 18. Sept. 7 Uhr vorm., d. h. nach 11 Tagen.

Kontrollversuch 2, 1. Juli 1907. 5 weiße Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert, ohne immunisiert zu werden.

Resultat. 3 der Tiere sind am 15. Juli 4 Uhr nachm. paralysiert und sterben am 18. Juli 7 Uhr abends, d. h. nach 18 Tagen; ein anderes wird am 16. Juli 9 Uhr vorm. paralysiert und stirbt am 17. Juli 10 Uhr vorm., d. h. nach 17 Tagen; das andere zeigt am 19. Juli 9 Uhr abends Paralyse und stirbt am 22. Juli 7 Uhr abends.

b) Wutnervensubstanz.

Versuch 1, 25. Mai 1906. 3 weißen und einer schwarzen mit Straßenvirus sub cute infizierten Ratten werden sofort 2 Einspritzungen täglich, je von 1 ccm einer Emulsion von Wuthirn eines Kaninchens zu 10 Proz. und Karbolsäure 1 Proz. gemacht und 14 Tage lang fortgesetzt, d. h. im ganzen werden 28 ccm eingespritzt.

Resultat. Die 3 weißen Ratten bleiben am Leben. Die schwarze Ratte zeigt am 10. Juni Paralyse und stirbt am 11., also nach 17 Tagen.

Kontrollversuch, 25. Mai 1906. 4 weißen Ratten wird Straßenvirus injiziert, ohne sie dann zu immunisieren.

Resultat. Eine Ratte stirbt an der Wut am 6. Juni, d. h. 11 Tage später; eine andere verendet am 2. Juni, ohne Paralyse, d. h. nach 8 Tagen; die anderen beiden weisen am Abend des 6. Juni Paralyse auf und gehen am Vormittag des 7. Juni ein, also nach 13 Tagen.

II. Serie.

a) Normale Rattennervensubstanz.

Versuch am 22. Juni 1907. 5 schwarzen Ratten, sub cute mit Straßenvirus infiziert, wird sofort 2mal täglich 1 ccm einer Emulsion zu 5 Proz., mit 1 Proz. Karbolsäure versetzt, vom Gehirn einer gesunden Ratte injiziert. Die Injektionen werden 15 Tage lang fortgesetzt und im ganzen werden 30 ccm verabreicht.

Resultat. Alle Tiere bleiben am Leben.



Kontrollversuch, 22. Juni 1907. 2 schwarze Ratten werden mit Straßenvirus sub cute infiziert.

Resultat. Die Tiere weisen am 11. Juli 7 Uhr vorm. Paralyse auf und gehen am 12. Juli 4 Uhr nachm. ein.

b) Wutnervensubstanz von Ratten.

Versuch am 22. Juni 1907. 5 schwarzen, mit Straßenvirus sub cute infizierten Ratten werden sofort 2 Einspritzungen täglich, je zu 1 ccm. 15 Tage hindurch, also im ganzen 30 ccm, einer 5-proz. Emulsion mit 1 Proz. Karbolsäure vom Hirn einer wutkranken Ratte zugeführt.

Resultat. 4 Ratten wurden aus unbekannten Gründen tot aufgefunden, nämlich am 9. Juli 7 Uhr vorm., 10. Juli 7 Uhr vorm., 13. Juli 4½ Uhr nachm. und am 23. Juli 7 Uhr vorm.; die 5. bleibt am Leben.

Schlußfolgerung. Die immunisierende Wirkung der Emulsion von normaler Nervensubstanz war nicht geringer als jene der Wutnervensubstanz. In der Tat starben von 26 mit Straßenvirus subkutan infizierten und dann mit normaler Nervensubstanz geimpften Ratten 2, infolgedessen wurden 97,7 Proz. gerettet. Von den 9 mit Wutnervensubstanz geimpften Ratten hingegen starb 1, infolgedessen wurden 89 Proz. gerettet, während die Kontrolltiere, 18 an der Zahl, alle zu Grunde gingen.

II. Vergleich mit der Wirkung anderer Organe.

Um mich in Bezug auf die Spezifizität der immunisierenden Wirkung der Nervensubstanz zu orientieren, versuchte ich die immunisierende Wirkung anderer Organe und wählte die an Lecithin reicheren als Nervensubstanz, wie dies gerade die Testikel sind. Das Sperma enthält in der Tat 18 Proz. dieser Substanz.

Versuch 1, 7. Sept. 1906. 10 weißen, subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten werden sofort 2 Einspritzungen täglich, je 1 ccm, 10 Tage hindurch in einer Totalmenge von 20 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von gesunden Hammeltestikeln (10 Proz.) verabreicht.

Resultat. Die Tiere werden am 18. Sept. paralysiert und gehen alle am 19., also nach 12 Tagen, an Wut ein.

Kontrollversuch, 7. Sept. 1906. 5 weiße Ratten wurden sub cute mit Straßenvirus geimpft.

Resultat. Die Tiere sind am 18. Sept. paralysiert und sterben an Wut am 19., also nach 12 Tagen.

Versuch 2, 1. Okt. 1906. 10 weißen, mit Straßenvirus subkutan injizierten Ratten werden sofort 2 Einspritzungen täglich, je 1 ccm, 15 Tage hindurch, im ganzen 30 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von Testikeln eines gesunden Hammels (10 Proz.) verabreicht.

Resultat. Die Tiere sind am 10. Okt. morgens 7 Uhr paralysiert und sterben alle am 11. Okt., d. h. nach 10 Tagen, an Wut.

Kontrollversuch, 1. Okt. 1906. Man injiziert subkutan 2 weiße Ratten mit Straßenvirus.

Resultat. Die Tiere sind am 10. Okt. paralysiert und sterben an Wut am 11. Okt., d. i. nach 10 Tagen.

Schlußfolgerung. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Testikelemulsion keine immunisierende Wirkung gegen die Wut ausübt.

20 mit Straßenvirus subkutan infizierte und dann mit einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von normalen Testikeln (10 Proz.) 15 Tage lang behandelte Ratten starben sämtlich mit den Kontrolltieren.

III. Immunisierende Wirkung der normalen und der Wutnervensubstanz, bei starker Verdünnung subkutan eingespritzt.

Ein anderer Weg, um zu entscheiden, ob ein Unterschied in der immunisierenden Wirkung der beiden in Rede stehenden Nervensubstanzen

besteht, schien mir jener, die Minimaldosis resp. die größte Verdünnung der beiden noch immunisierungsfähigen Substanzen festzustellen.

Zu diesem Zwecke versuchte ich in einer ersten Reihe von Versuchen die beiden Substanzen bei einer Verdünnung zu 1 Prom., und in einer 2. Reihe von Versuchen probierte ich die Verdünnungen von 1:10000 bis 1:40000.

I. Serie.

a) Normale Nervensubstanz zu 1 Prom.

Versuch, 27. Nov. 1906. Bei 2 mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Injektionen von je 1 ccm Emulsion vom Gehirn eines gesunden Lammes zu 1 Prom. mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure vorgenommen. Im ganzen werden 30 ccm der Emulsion eingespritzt.

Derselbe Versuch wird an einer 3. wiederholt, nur werden dieser 2 ccm, im ganzen 60 ccm Emulsion eingespritzt.

Resultat. Eine der beiden mit 30 ccm inokulierten Ratten stirbt am 18. Dez., d. i. nach 21 Tagen, aber nicht an Wut. Die beiden anderen bleiben am Leben; sie leben noch am 27. März 1907.

b) Wutnervensubstanz 1 Prom.

Versuch am 27. Nov. 1906. An 2 subkutan mit Straßenvirus infizierten schwarzen Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Injektionen à 1 ccm fixen Virus mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure, im ganzen 30 ccm, vorgenommen.

Dieselbe Behandlung wird bei einer 3. wiederholt; dieser werden Einspritzungen von 2 ccm, zusammen 60 ccm, verabreicht.

Resultat. Sämtliche Tiere bleiben am Leben. Sie leben noch am 27. März.

Kontrollversuch. 2 schwarze Ratten werden am 27. Nov. subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Eine der Ratten weist am 12. Dez. Paralyse auf und stirbt am 14. Dez. 9 Uhr vorm., also nach 17 Tagen, an Wut, die andere weist am 13. Dez. Paralyse auf und stirbt am 15. vorm. 8 Uhr, d. i. nach 18 Tagen, an Wut.

II. Serie.

a) Normale Nervensubstanz, verdünnt zu 1:10000 bis 40000.

Versuch 1, 14. Dez. 1906. 2 schwarzen, mit Straßenvirus sub cute infizierten Ratten werden 15 Tage lang Einspritzungen à 1 ccm einer Emulsion vom Gehirn eines gesunden Lammes zu 1:10000 und $^1/_2$ Proz. Karbolsäure, total 30 ccm Emulsion, verabreicht.

Resultat. Eine der Ratten weist am 4. Jan. 1907 8 Uhr vorm. Paralyse auf und verendet am selben Tage um 7 Uhr abends an Wut, folglich nach 21 Tagen. Die andere bleibt am Leben. Noch 1mal injiziert, am 4. und 15. Febr. 1907 mit fixem Virus, bleibt sie dennoch am Leben. Sie lebt noch am 27. März.

Versuch 2, 14. Dez. 1906. 2 schwarze, mit Straßenvirus sub cute infizierte Ratten werden wie oben behandelt, nur wird eine Emulsion von 1:20000 angewandt.

Resultat. 1 zeigt am 26. Dez. 9 Uhr vorm. Paralyse und verendet am 27. Dez. 7 Uhr abends an Wut. Die andere weist am 2. Jan. Paralyse auf und geht am 4. Jan. zu Grunde.

Versuch 3, 14. Dez. 1906. 2 schwarze, mit Straßenvirus sub cute infizierte Ratten werden wie oben immunisiert, nur wird eine Emulsion von 1:40000 angewandt.

Resultat. Beide Tiere bleiben am Leben. 2 andere Male injiziert, am 4. und am 15. Febr. 1907 mit fixem Virus, bleiben sie am Leben. Sie lebten noch am 27. März.

Kontrollversuch. 2 schwarze Ratten werden mit Straßenvirus sub cute infiziert.

Resultat. Beide Tiere weisen am 26. Dez. Paralyse auf und sterben an Wut am 27. Dez.

b) Wutnervensubstanz, verdünnt zu 1:10000 bis 40000.

Versuch 1, 14. Dez. 1907. An 2 schwarzen, mit Straßenvirus infizierten Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen à 1 ccm von fixem Virus 1:10000 mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure, im ganzen 30 ccm Impfstoff, vorgenommen.

Resultat. Eines der Tiere weist am 26. Dez. Paralyse auf und stirbt an Wut am 27. Dez., also nach 13 Tagen.

Das andere bleibt am Leben. Von neuem, am 4. Feb. 1907 mit fixem Virus geimpft, bleibt es am Leben. Es lebte noch am 27. März.

Versuch 2, 14. Dez. 1906. 2 schwarze Ratten werden mit Straßenvirus subkutan infiziert und wie oben immunisiert, nur wendet man eine Emulsion von 1:20000 an.

Resultat. Die beiden Tiere bleiben am Leben.

Sie werden noch 2mal, am 4. und 15. Feb. 1907, mit fixem Virus infiziert, bleiben aber am Leben und leben noch am 27. März.

Versuch 3, 14. Dez. 1906. 2 schwarze Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert und wie oben immunisiert, nur wendet man eine Emulsion von 1:40000 an.

Resultat. Eine weist am 3. Jan. 1907 Paralyse auf und stirbt am 4., d. i. nach 20. Tagen. Die andere bleibt am Leben. Sie lebt noch am 27. März.

III. Serie.

a) Normale Nervensubstanz, verdünnt zu 10000 bis 40000.

Versuch 1, 17. Jan. 1907. 2 schwarzen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Injektionen von je 1 ccm einer Emulsion gesunden Lammhirn zu 1:10000 mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure verabreicht. Im ganzen erhält jede 30 ccm Emulsion.

Resultat. 1 bleibt am Leben, die andere weist am 2. Febr. 4 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 3. 8 Uhr vorm.

Versuch 2, 17. Jan. 1907. 4 schwarze, mit Straßenvirus sub cute infizierte Ratten werden wie oben immunisiert, doch wird eine Emulsion von 1:20000 angewandt.

Resultat. 1 stirbt aus unbekannten Gründen am 21. Jan., d. i. nach 4 Tagen, eine andere zeigt am 2. Febr, Lähmung und stirbt an Wut am 3. Febr. Die beiden anderen bleiben am Leben. Sie leben noch am 28. März.

Versuch 3, 17. Jan. 1907. 2 schwarze, mit Straßenvirus sub cute infizierte Ratten werden wie oben immunisiert, nur wendet man eine Emulsion von 1:40000 an.

Resultat. Die Tiere bleiben beide am Leben. Sie lebten noch am 28. März.

Kontrollversuch, 17. Jan. 1907. 2 Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Sie weisen am 31. Jan. Lähmung auf und sterben am 1. Febr.

b) Wutnervensubstanz, verdünnt zu 1:10000 bis 40000.

Versuch 1, 17. Jan. 1907. 2 schwarzen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Tieren werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm fixem Virus zu 1:10000 mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure, im ganzen 30 ccm Impfstoff, verabreicht.

Resultat. 1 der Ratten bleibt am Leben; sie lebte noch am 28. März. Die andere weist am 2. Febr. vorm. 8 Uhr Lähmung auf und stirbt am selben Tage 6 Uhr nachm., d. i. nach 16 Tagen, an Wut.

Versuch 2, 17. Jan. 1907. 4 schwarze, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten werden wie oben immunisiert, es wird jedoch eine Emulsion von 1:20000 angewandt.

Resultat. 1 weist am 2. Febr. vorm. 8 Uhr Lähmung auf und stirbt am selben Tage 6 Uhr abends, d. i. nach 16 Tagen. Die anderen 3 bleiben am Leben. Sie lebten noch am 28. März.

Versuch 3, 17. Jan. 1907. 2 schwarze, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten werden wie oben behandelt, nur wird eine Emulsion von 1:40000 angewandt.

Resultat. Die Tiere blieben am Leben. Sie lebten noch am 28. März.

Kontrollversuch, 17. Jan. 1907. 2 schwarze Ratten werden sub cute mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Sie weisen am 31. Jan. Lähmung auf und sterben am 1. Febr.

IV. Serie.

a) Normale Nervensubstanz, verdünnt bis 1:10000 bis 40000.

Versuch 1, 23. Jan. 1907. An 3 weißen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Mäusen werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Emulsion von gesundem Lammhirn zu 1:10000 mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure vorgenommen. Im ganzen werden $7^1/_2$ ccm Emulsion injiziert.

Resultat. 1 weist am 5. Febr. 10 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt an Wut am 7. Febr. 8 Uhr vorm. Die beiden anderen bleiben am Leben. Sie lebten noch am 28. März.

Versuch 2, 23. Jan. 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus sub cute infizierte Mäuse werden wie oben immunisiert, doch wird eine Emulsion von 1:30000 angewandt.

Resultat. Eine Maus zeigt am 15. Febr. Lähmung (vorm. 7 Uhr) und stirbt

am 16. Febr. 8 Uhr abends. Die beiden anderen bleiben am Leben. Sie lebten noch am 28. März.

Versuch 3, 23. Jan. 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus sub cute infizierte Mäuse werden wie oben immunisiert, bei Anwendung einer Emulsion von 1:40000.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben; sie lebten noch am 28. März.

b) Wutnervensubstanz auf 1:10000 bis 40000 verdünnt.

Versuch 1, 23. Jan. 1907. 3 weißen, sub cute mit Straßenvirus infizierten Mäusen werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1:10000 mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure sub cute verabreicht, im ganzen jeder Maus $7^1/_2$ ccm.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2, 23. Jan. 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus sub cute infizierte Mäuse werden wie oben immunisiert, unter Anwendung einer Emulsion von 1:20000.

Resultat. 1 der Mäuse zeigt am 6. Febr. Lähmung und stirbt am 7.; die anderen beiden bleiben am Leben.

Versuch 3, 23. Jan. 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus sub cute infizierte Mäuse werden wie oben immunisiert, doch unter Anwendung einer Emulsion von 1:40000.

Resultat. 1 Maus weist am 13. Febr. Lähmung auf und verendet am 14.; die anderen bleiben am Leben.

Kontrollversuch, 23. Jan. 1907. 3 Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. 1 zeigt am 1. Febr. Lähmung und stirbt am 3. Febr., die anderen weisen am 2. Febr. Lähmung auf und verenden am 3. Febr.

Schlußfolgerung: Aus diesen beiden Serien geht also hervor:

1) Daß die normale Nervensubstanz ungefähr eine gleiche immunisierende Wirkung besitzt wie jene der Emulsion von fixem Virus; in der Tat

a) geht aus der ersten Reihenfolge der Versuche hervor, daß von 3 mit Emulsion von gesundem Lammhirn (2 Einspritzungen täglich à 1 ccm 15 Tage lang) und von 3 anderen mit Emulsion von fixem Virus in derselben Weise immunisierten Ratten keine an Wut einging, während die Kontrolltiere alle in 17 Tagen zu Grunde gingen.

b) geht aus der zweiten Reihe der Versuche hervor, daß von 6 mit Hirnemulsion von gesundem Lammhirn bei stärkerer Verdünnung immunisierte Ratten (2 Einspritzungen täglich von je 1 ccm 15 Tage hindurch) 3 gerettet wurden; von 6 anderen mit fixem Virus auf gleiche Weise immunisierten wurde nur eine mehr gerettet.

Dieser geringe Unterschied konnte auch zufällig sein.

c) zeigt die dritte Reihe von Versuchen noch deutlicher, daß die normale Nervensubstanz eine fast gleiche immunisierende Kraft besitzt wie die Wutnervensubstanz, denn während von 8 mit fixer Virusemulsion (2 Einspritzungen täglich von 1 ccm jede 15 Tage lang) zu 1:10000—20000—40000 immunisierten 6 gerettet wurden, wurden von 7 anderen mit Hirnemulsion von gesundenem Lamme bei gleicher Verdünnung 5 gerettet und 2 starben an Wut.

d) geht endlich aus der vierten Reihe von Versuchen hervor, daß von 9 weißen mit Hirnemulsion von gesundem Lamme bei Verdünnung von 1:10000—20000—40000 7 gerettet wurden, dem entsprechend, was bei anderen 9 mit Wutnervensubstanz immunisierten Mäusen beobachtet wurde.

2) Daß die Emulsion von Nervensubstanz nicht nur bei 1:1000, sondern auch bei 1:40000 wirksam war, gerade so wie die Emulsion von fixem Virus.

3) Daß der Verdünnungsgrad einen Einfluß ausübt, denn während alle 6 mit Emulsion zu 1:1000 immunisierten Tiere gerettet wurden, konnte man nur 7 von den 12 mit Emulsion von 1:10000—1:40000 behandelten retten. Außerdem bestätigt sich der Einfluß der Verdünnung



nur in bestimmten Grenzen, denn während von den mit Emulsion von fixem Virus von 1 : 10000—1 : 20000 behandelten Ratten nur 1 von 2 und 1 von 4 gerettet wurde, konnte man mit der Emulsion von 1:40000 beide mit dieser Emulsion behandelte Ratten retten. Desgleichen wurden alle 3 mit Emulsion von gesundem Lammhirn zu 1 : 40000 gerettet, während 1 von 3 mit derselben Emulsion zu 1 : 10000—1 : 20000 immunisierten Mäusen zu Grunde ging.

4) Daß bei den behandelten und an der Wut verendeten Tieren Verspätungen selbst von 9 Tagen in Bezug auf die Kontrolltiere zu verzeichnen waren.

IV. Einfluß der Austrocknung auf die immunisierende Wirkung der normalen und der Wutnervensubstanz, subkutan eingespritzt.

Sowohl um zu entscheiden, ob die Austrocknung einen Einfluß auf die Impfwirkung der Nervensubstanz ausübt als auch um zu sehen, ob die Austrocknung fähig wäre, irgend welchen Unterschied in der immunisierenden Wirkung der normalen und der Wutnervensubstanz an den Tag zu bringen, stellte ich folgende Versuche an:

I. Serie.

a) Getrocknete normale Nervensubstanz (Lamm).

Versuch 1, 19. Febr. 1907. 2 schwarzen mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer Emulsion von gesundem Lammhirn zu 10 Proz., 3 Tage lang im Thermostaten bei 30° ausgetrocknet und 1 Proz. Karbolsäure enthaltend, verabreicht. Die Gesamtmenge betrug pro Tier 30 ccm.

Resultat. 1 Ratte stirbt nach 10 Tagen, die andere nach 12; beide sind gelähmt.

Kontrollversuch, 19. Febr. 1907. 2 schwarze Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Die Tiere weisen am 3. März 8 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden an Wut am selben Tage 8 Uhr nachm., d. i. nach 12 Tagen.

Versuch 3, 16. Dez. 1906. 2 mit Straßenvirus subkutan infizierten schwarzen Ratten werden 11 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer Emulsion von gesundem Lammhirn zu 1 Proz., welches 3 Tage lang im Thermostaten bei 30° ausgetrocknet worden war und 1/2 Proz. Karbolsäure enthielt, im ganzen 22 ccm Emulsion, verabreicht.

Resultat. Die Tiere weisen am 26. Dez. Lähmung auf und verenden am 27.

b) Ausgetrocknete Wutnervensubstanz (Kaninchen).

Versuch 1, 16. Dez. 1906. 2 mit Straßenvirus subkutan infizierten schwarzen Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm, im ganzen 30 ccm, einer 1-proz. Emulsion von im Thermostaten 3 Tage lang bei 30° ausgetrocknetem und mit 1/2 Proz. Karbolsäure versetztem fixen Virus verabreicht.

Resultat. 1 weist am 1. Jan. Lähmung auf und verendet am 2.; die andere bleibt am Leben; sie lebte noch am 28. März.

Versuch 3, 19. Febr. 1907. 2 mit Straßenvirus subkutan infizierten schwarzen Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer 10-proz. Emulsion von fixem Virus, welches 3 Tage im Thermostaten bei 30° ausgetrocknet und mit 1 Proz. Karbolsäure versetzt worden war, verabreicht. Gesamtmenge 30 ccm pro Tier.

Resultat. 1 verendet nach 10 Tagen ohne Lähmung, die andere bleibt am Leben.

II. Serie.

a) Ausgetrocknete normale Nervensubstanz vom Lamm.

Versuch, 1. April 1907. 8 weißen Mäusen, die subkutan mit Straßenvirus infiziert worden waren, werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1/4 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Hirnemulsion von gesundem Lamme (10 Proz.), die auf Aetznatron 3 Tage lang bei einer Temperatur von 16° (Methode Pasteur) ge-

trocknet worden war, verabreicht, indem man im ganzen 7½ ccm Emulsion (10 g trockene Substanz in 100 ccm 1-proz. Karbolsäurelösung) injizierte.

Resultat. 3 Mäuse weisen am 13. April 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am 13. April nachm.; 3 andere weisen am 14. April 8 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 15. April 9 Uhr vorm.; eine andere weist am 14. April 8 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt um 3 Uhr nachm.; noch eine andere wird am 14. April tot aufgefunden.

Kontrollversuch. 3 weiße Mäuse werden subkutan mit demselben Straßenvirus infiziert.

Resultat. 2 Tiere weisen am 13. April Lähmung auf und verenden am 14., das dritte zeigt am 14. April Paralyse und stirbt am 15.

b) Getrocknete Wutnervensubstanz von Kaninchen.

Versuch, 29. April 1907. 8 weißen Mäusen, die mit Straßenvirus subkutan infiziert worden waren, werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je ¼ ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion vom Hirn eines wutkranken Kaninchens (fixes Virus), welches auf Aetznatron 3 Tage hindurch bei einer Temperatur von 16° (Methode Pasteur) ausgetrocknet worden war, verabreicht, indem man im ganzen 7½ ccm Emulsion (10 g trockene Substanz in 100 ccm 1-proz. Karbolsäurelösung) einspritzt.

Resultat. Eine der Mäuse starb aus unbekannten Gründen nach 3 Tagen, eine andere weist am 14. Mai 8½ Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 15. um 8 Uhr vorm.; eine andere zeigt am 17. Mai Lähmung gegen 7 Uhr vorm. und verendet am 18. Mai um 7 Uhr nachm.; die anderen bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 2 weiße Mäuse werden subkutan mit einer Emulsion Straßenvirus infiziert.

Resultat. Beide weisen am 11. Mai 5 Uhr nachm. Lähmung auf und verenden am 13. 7 Uhr vorm.

III. Serie.

a) Getrocknete normale Nervensubstanz vom Lamm.

Versuch, 1. April 1907. 4 mit Straßenvirus subkutan infizierten schwarzen Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion von gesundem Lammhirn, welches mit Aetznatron 3 Tage lang bei einer Temperatur von 16° (Methode Pasteur) getrocknet worden war, verabreicht. Im ganzen erhält jede Ratte 30 ccm Emulsion, 10 g trockene Substanz in 100 ccm 1-proz. Karbollösung.

Resultat. Eine der Ratten weist am 13. April 4 Uhr nachm. Lähmung auf, eine andere am 14. April 8 Uhr vorm. und verendet am selben Tage 4 Uhr nachm. Die beiden anderen weisen am 27. April 8 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am selben Tage 7 Uhr abends mit einer Verspätung von 14 Tagen den anderen gegenüber.

b) Getrocknete Wutnervensubstanz von Kaninchen.

Versuch, 1. April 1907. 5 mit Straßenvirus subkutan infizierte schwarze Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion von wutkrankem Kaninchenhirn (fixes Virus), welches 3 Tage lang auf Aetznatron bei einer Temperatur von 16° (Methode Pasteur) getrocknet worden war. Im ganzen erhielt jedes Tier 30 ccm Emulsion, 10 g trockene Substanz in 100 ccm 1-proz. Karbollösung.

Resultat. 1 Ratte verendet am 11. April (nach 10 Tagen) aus unbekannten Gründen; eine andere stirbt ebenfalls aus unbekannten Gründen am 1. Mai; eine dritte weist am 19. April 8 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am selben Tage um 8 Uhr nachm., die beiden anderen bleiben am Leben. Sie lebten noch am 7. Juni.

Versuch, 19. April 1907. 3 mit Straßenvirus subkutan infizierte schwarze Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 1 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion vom wutkranken Kaninchenhirn (fixes Virus), welches auf Aetznatron 3 Tage lang bei 30° getrocknet worden war. Im ganzen erhielt jedes Tier 30 ccm Emulsion, 10 g trockene Substanz in 100 ccm Karbollösung zu 1 Proz.

Resultat. 1 Ratte stirbt am 24. April (nach 5 Tagen) aus unbekannten Gründen; eine andere weist am 3. Mai 7 Uhr abends Lähmung auf und stirbt am 4. Mai 8 Uhr vorm.; die dritte bleibt am Leben.

(Fortsetzung folgt.)

Ueber den Desinfektionswert des Hygienols.

[Aus dem Institut für Hygiene und experimentelle Therapie; Abteilung für Hygiene. Vorstand: Prof. Dr. H. Bonhoff.]

Von Kreisassistenzarzt Dr. **Wolf**-Marburg.

Es bedarf wohl kaum eines besonderen Hinweises, welche Bedeutung das Kresol in der Desinfektionspraxis besitzt. Daher findet es auch in Form der Kresolseifenlösung in der Desinfektionsanweisung, welche als Anlage zu den Ausführungsbestimmungen zum preußischen Gesetz vom 28. Aug. 1905, betr. Bekämpfung übertragbarer Krankheiten, erschienen ist, eine ausgedehnte Verwendung. Außerdem wird es in der kleinen Chirurgie und namentlich in der Geburtshilfe gebraucht. Als ein Nachteil dieses Mittels dürfte wohl nur zu erwähnen sein, daß es unangenehm riecht und sich im Wasser nicht klar löst.

Diesen Uebelstand vermeidet das von der chemischen Fabrik Vahrenwald bei Hannover in den Handel gebrachte Hygienol von Dr. Doerbecker, das uns zu Versuchszwecken zur Verfügung gestellt wurde. Dies ist eine schwach nach schwefliger Säure riechende, dunkelrote Flüssigkeit und stellt eine Verbindung von Kresol und schwefliger Säure dar. Vor dem Gebrauch ist das Präparat umzuschütteln. Eine 5-proz. Lösung ist schwach rosa gefärbt, vollständig klar, geruchlos und besitzt erhebliche desodorisierende Eigenschaften auf Stuhl und Urin.

Um nun den Desinfektionswert dieses Mittels zu prüfen, verfuhr ich nach der Angabe von Krönig und Paul (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV). Als Testobjekte benutzte ich Granaten von stets gleicher Beschaffenheit, zu deren Herstellung 24 Stunden alte Agarkulturen verwendet waren, deren Rasen mit Bouillon übergossen und abgeschabt wurden. Nachdem die Granaten getrocknet waren, wurden verschiedene auf Agar gebracht; es zeigte sich, daß die angetrockneten Bakterien ein gutes Wachstum besaßen. — Zur Untersuchung der bakterientötenden Eigenschaften verwandte ich eine 5-proz. und eine 2-proz. Hygienollösung und als Kontrolle eine 2-proz. Lösung von Kreosol. pur. Die Versuche erstreckten sich auf: Staphylococcus pyogenes aureus, Coli-, Typhus- und Rotzbacillen, auf die Erreger der Hühnerseuche und Hühnercholera und auf Milzbrandsporen.

Das Verfahren gestaltete sich folgendermaßen: Je 4 Granaten blieben eine bestimmte Zeit in der zu untersuchenden Desinfektionslösung, wurden dann in steriler 0,5-proz. (bei Sporen 5-proz.) Ammoniaklösung in vier verschiedenen sterilen Schälchen abgespült und dann auf 4 Röhrchen mit schräg erstarrtem Agar gebracht; hierbei wurde stets darauf geachtet, daß die Granaten in das reichlich vorhandene Kondenswasser kamen. Nebenher wurden noch Kontrollversuche mit Granaten vorgenommen, die

1) nicht in der Desinfektionslösung,
2) wohl kurze Zeit (2 Min.) in der Desinfektionslösung, aber nicht im Ammoniak,
3) 2 Minuten in der Desinfektionslösung und im Ammoniak,
4) nur im Ammoniak

gewesen waren. Sämtliche Röhrchen blieben 14 Tage lang im Brutschrank bei 37° C und wurden täglich nachgesehen. Die Kontrollversuche ergaben:

ad 1) starkes,
ad 2) etwas gehemmtes,
ad 3) starkes,
ad 4) starkes Wachstum.

Das Resultat der eigentlichen Untersuchungen ist in folgenden Tabellen zusammengestellt (× bedeutet reichliches, + ziemliches, □ spärliches, — kein Wachstum).

Tabelle 1. 5-proz. Hygienollösung.

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit: 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
Staphylokokken						
5 Min.	□	□	+	×	×	×
10 „	□	□	+	×	×	×
15 „	—	—	□	□	□	□
30 „	—	—	—	—	—	—
1 Std.	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
Coli-Bacillen						
5 Min.	□	□	+	+	+	+
10 „	—	□	□	□	□	□
15 „	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—
1 Std.	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
Typhusbacillen						
5 Min.	□	+	+	×	×	×
10 „	□	□	□	+	+	+
15 „	—	□	□	+	+	+
30 „	—	—	—	—	—	—
1 Std.	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—

Tabelle 2. 5-proz. Hygienollösung.

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit: 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
Milzbrandsporen						
10 Min.	+	+	×	×	×	×
30 „	+	+	×	×	×	×
1 Std.	□	□	+	+	×	×
2 „	□	□	+	+	×	×
12 „	□	□	+	+	×	×
14 „	—	□	□	+	×	×
Rotzbacillen						
10 Min.	+	+	×	×	×	×
30 „	—	+	×	×	×	×
1 Std.	—	□	□	+	×	×
2 „	—	□	+	+	×	×
12 „	—	□	+	+	+	+
24 „	—	—	□	□	□	□
Hühnerseuche						
5 Min.	□	□	+	+	+	+
10 „	—	□	+	+	+	+
15 „	—	□	+	+	+	+
30 „	—	—	—	—	—	—
1 Std.	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
Hühnercholera						
5 Min.	—	□	□	+	+	+
10 „	—	□	□	+	+	+
15 „	—	□	□	□	□	+
30 „	—	—	□	□	□	□
1 Std.	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—

Aus den 2 ersten Tabellen ergibt sich, daß die 5-proz. Hygienollösung abgetötet hat:

Coli-Bacillen nach 15 Minuten,
Staphylokokken und Typhusbacillen nach 30 Minuten,
die Erreger der Hühnerseuche und Hühnercholera nach 30 resp. 40 Minuten,
während Rotzbacillen und Milzbrandsporen in ihrem Wachstum erst nach längerer Einwirkung erheblich beschränkt sind.

Die 2-proz. Hygienollösung ist in ihrer Wirksamkeit bedeutend schwächer, denn Staphylokokken, Typhus- und Coli-Bacillen sind noch nicht nach einer Einwirkungszeit von 2 Stunden abgetötet (Tabelle 3).

Tabelle 3. 2-proz. Hygienollösung.

Staphylokokken

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
5 Min.	+	+	×	×	×	×
10 „	+	+	×	×	×	×
15 „	□	□	+	+	×	×
30 „	□	□	+	+	×	×
1 Std.	□	□	+	+	+	+
2 „	—	□	□	+	+	+
12 „	—	—	—	—	—	—

Typhusbacillen

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
5 Min.	+	+	×	×	×	×
10 „	□	□	+	×	×	×
15 „	□	□	□	+	×	×
30 „	□	□	□	+	×	×
1 Std.	□	□	□	+	+	×
2 „	□	□	□	+	+	+
12 „	—	—	—	—	—	—

Coli-Bacillen

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
5 Min.	+	+	×	×	×	×
10 „	□	□	+	+	×	×
15 „	□	□	+	+	×	×
30 „	□	□	+	+	+	+
1 Std.	□	□	+	+	+	+
2 „	—	□	□	□	□	□
12 „	—	—	—	—	—	—

Tabelle 4. 2-proz. Kresollösung.

Milzbrandsporen

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
1 Std.	×	×	×	×	×	×
2 „	+	×	×	×	×	×
12 „	□	+	×	×	×	×
24 „	□	□	+	×	×	×

Staphylokokken

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
5 Min.	□	+	×	×	×	×
10 „	□	□	×	×	×	×
15 „	—	□	□	□	□	□
30 „	—	—	—	—	—	—
1 Std.	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—

Typhusbacillen

Einwirkungszeit	Beobachtungszeit 1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	14 Tg.
5 Min.	□	□	×	×	×	×
10 „	□	□	+	+	+	+
15 „	□	□	+	+	+	+
30 „	—	—	□	□	□	□
1 Std.	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—

Wie ein Vergleich der zwei ersten mit der 4. Tabelle ergibt, entspricht der Desinfektionseffekt der 5-proz. Hygienollösung ungefähr der 2-proz. Kresollösung, denn beide töten vegetative Formen verschiedener Bakterien nach einer Einwirkungszeit von 30 Minuten ab und hemmen das Wachstum von Milzbrandsporen.

Daß die Hygienollösung, ebenso auch die Kresollösung auf Milzbrandsporen weniger stark einwirken, ist weiter nicht auffallend, da diese gegen chemische Desinfektionsmittel sehr widerstandsfähig sind; auf Rotzbacillen ist die Wirkung etwas intensiver.

Mit unserer Anordnung der Versuche haben wir zu erreichen versucht, Verhältnisse zu schaffen, wie sie in der Wirklichkeit vorkommen, weil man es in der Praxis hauptsächlich mit der Vernichtung angetrockneter Bakterien zu tun hat. — Würde man diese Versuche statt mit an Granaten angetrockneten Bakterien direkt mit den Aufschwemmungen angestellt haben, denen man die Desinfektionslösung zusetzt, so hätte man nicht so genaue Resultate erhalten; denn es ist leicht verständlich, und auch von Geppert nachgewiesen, daß das Wachstum der Bakterien gehindert wird, wenn man sie mit Spuren des Desinfektionsmittels zusammen in den Nährboden bringt. Dieser Fehler wird durch Verwendung von Granaten und das Abspülen mit Ammoniak vermieden.

Da nun in der amtlichen Desinfektionsanweisung das verdünnte Kresolwasser (2,5-proz.) bei der Desinfektion von Auswurf, Rachenschleim, Erbrochenem, Stuhl, Harn u. s. w. mindestens 2 Stunden, bei infizierter Wäsche ebenso lange einwirken soll, so kann die 5-proz.

Hygienollösung zu demselben Zwecke ohne Bedenken verwendet werden, da sie alle Anforderungen erfüllt, welche man an ein brauchbares Desinfektionsmittel stellen muß und sich noch durch ihre Geruchlosigkeit und ihr klares Lösungsvermögen auszeichnet. Da 50 kg 35 M. kosten, ist auch die Verwendung nicht zu kostspielig; daher kann Hygienol auch da angewandt werden, wo es in großen Mengen gebraucht werden muß, z. B. zum Desinfizieren von Güterwagen, in Schlachthäusern, Markthallen und öffentlichen Gebäuden, wo man stark riechende Desinfektionsmittel nicht benutzen darf.

Ueber den Wert des Leuchsschen Malachitgrünagars zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen.

[Aus dem staatlichen hygienischen Institut zu Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Dunbar).]

Von Dr. **Ernst Fürth,**

Marine-Oberassistenzarzt, früherem Assistenten am Institut.

Im Jahre 1903 empfahl Loeffler (1) im Greifswalder ärztlichen Verein Malachitgrün als wertvolles Hilfsmittel für den Nachweis von Typhusbacillen, indem er auf dessen Eigenschaft hinwies, das Wachstum von B. coli zu hemmen in Konzentrationen, die Typhuswachstum nicht beeinträchtigten. Seitdem sind von vielen Seiten Nachprüfungen über den Wert dieses Farbstoffes für genannten Zweck angestellt worden, welche immerhin erkennen ließen, daß die Typhusnährböden durch ihn eine wertvolle Bereicherung erfahren hatten. Freilich wichen die Ergebnisse dieser Nachprüfungen mehr oder minder stark untereinander ab. Fast jede der angewandten Modifikationen des Farbstoffes zeigte die erwartete Wirkung in einer anderen Konzentration. Ja, nicht einmal mit ein und demselben Präparat konnten, wenn es zu verschiedenen Zeiten von der gleichen Fabrik bezogen war oder längere Zeit aufbewahrt wurde, gleiche Resultate erzielt werden.

Der Grund hierfür lag in erster Linie darin, daß die von den verschiedenen chemischen Fabriken in den Handel gebrachten Malachitgrünpräparate ungleichmäßige Zusammensetzung hatten. Viele von ihnen sind mit Dextrin oder anderen Stoffen gemischt. Diese Zusätze schwächen einmal die Wirkung des Grüns für unseren vorliegenden Zweck ab, dann auch bedingen sie infolge ihrer leichten Zersetzlichkeit eine unberechenbare Veränderung der Wirkung der grünen Nährböden.

Die Folge dieser Umstände für das bakteriologische Arbeiten war die lästige Notwendigkeit, stets von neuem die gerade wirksame Konzentration des Farbstoffes vor seiner Anwendung festzustellen; ein Umstand, welcher der Verbreitung der neuen Methode nicht förderlich sein konnte. Es hatte daher eine im Jahre 1906 mitgeteilte Empfehlung von Leuchs (2) viel Bestechendes, welcher empfahl, anstatt des mit Dextrin abgeschwächten Präparates das gleichfalls im Handel befindliche reine Malachitgrün (ohne Dextrinzusatz) zu verwenden und dessen Wirkung erst bei der Nährbodenbereitung selbst durch Beifügung von Dextrin in gewünschter Weise abzuschwächen.

Die Ergebnisse, die Leuchs mit einem reinen Malachitgrünpräparat, dem Malachitgrün „Kristalle extra“ aus den Höchster Farbwerken erzielte, waren so günstige, daß sie notwendigerweise zu Nachprüfungen auffordern mußten.

War aber die Zweckmäßigkeit des Leuchsschen Gedankens schon ohne weiteres einleuchtend, so bestimmten mich noch die bisher im hiesigen Institut gewonnenen Erfahrungen mit dem nach Lentz und Tietzscher Vorschrift (4, 5) angefertigten Nährboden, nach denen, wie bei fast allen anderen Nachprüfungen, nur wenig gleichmäßige Ergebnisse vorlagen, das Verfahren von Leuchs in eingehender Weise nur mit dem Verfahren von v. Drigalski-Conradi in Vergleich zu setzen.

Es galt zunächst, festzustellen, ob die Wirkung des meinen Versuchen zu Grunde liegenden Malachitgrünpräparates „Kristalle extra“ aus den Höchster Farbwerken mit der Wirkung des von Leuchs angewandten übereinstimmte. Ich gebrauchte anfangs ein schon vor längerer Zeit bezogenes Präparat und ließ mir später, um sicher die Gleichmäßigkeit des Fabrikates zu erweisen, von gleicher Firma unter derselben Bezeichnung nochmals eine frische Probe zusenden. Bezüglich der Wirkung stellte ich folgendes fest:

Im großen ganzen waren beide Präparate in ihrer Wirkung gleich. Sowohl das alte wie das neue waren in gleicher Konzentration verwendbar, und diese Konzentration entsprach wiederum der von Leuchs angegebenen. Mit dem Zusatz von 1,6—1,8 ccm einer 0,1-proz. Malachitgrünlösung zu 100 ccm Nährboden war der höchst zulässige Gehalt an Malachitgrün erreicht. Hierbei entsprach auch die Coli-hemmende Wirkung, soweit sich eine solche überhaupt feststellen ließ, dem von Leuchs gefundenen Ergebnis. In eingehenderer Weise komme ich auf diesen Punkt später noch zurück. In geringem Grade freilich veränderte sich die Wirkung auch dieses Präparates, wie der fertigen Lösung beim Aufbewahren, doch ist diese Veränderung, verglichen mit der viel stärkeren Verschiedenheit, die sich beim Gebrauch anderer Präparate ergab, unwesentlich zu nennen.

Daß auch hinsichtlich der bei der Nährbodenbereitung äußerst wichtigen Sorgfalt für gleichmäßige Reaktion das von Leuchs empfohlene Verfahren großen Vorteil bietet, ergibt sich aus folgendem:

Nachdem Klinger (3) zuerst auf die Wichtigkeit einer bestimmten Reaktion des Agars gerade beim Malachitgrünverfahren hingewiesen hatte, wurde bei den späteren Versuchen diesem Punkte eine größere Aufmerksamkeit geschenkt. Die in den bisherigen Veröffentlichungen als günstigste angegebene Reaktion des Malachitgrünagars ist fast ebenso verschieden, wie die verwendete Art des Malachitgrüns und dessen Zusatzmenge. Schon Lentz und Tietz (5) hatten darauf hingewiesen, daß das von ihnen verwendete Präparat „Malachitgrün 120“ seine sauere Reaktion wahrscheinlich der aus Dextrin durch Zersetzung gebildeten Milchsäure verdanke. Sie haben diese Behauptung auch durch eine Reihe von Versuchen erwiesen. Da aber die verschiedenen Untersucher voneinander abweichende Befunde bei Festlegen der günstigsten Reaktion erhielten, nahmen Lentz und Tietz an, daß diese Säurebildung in den verschiedenen Präparaten eine verschiedene sein müsse. Diese Annahme erscheint berechtigt und erklärt die Unterschiede bei der Bestimmung der günstigsten Reaktion; man bedenke nur, daß einmal das Dextrin in verschieden großer Menge in den einzelnen Malachitgrünpräparaten ent-

halten ist, dann auch, wie bereits angedeutet, sich durch das verschiedene Alter der Präparate in dieser Dextrinmenge Zersetzungsvorgänge verschiedener Ausdehnung und Art abgespielt haben können. Diesem Uebelstand entgeht man dadurch, daß man mit Leuchs dem Nährboden von bestimmter Reaktion nach Zusatz der erforderlichen Dextrinmenge ein reines Malachitgrünpräparat zufügt.

Wie nach vorstehenden Ausführungen zu erwarten stand, wurden mit dem von uns benutzten Malachitgrün auch bezüglich der Reaktion des Agars mit Leuchs übereinstimmende Ergebnisse erzielt. Bei einem Zusatz von 0,5—0,7 ccm Normalsodalösung zu 100 ccm lackmusneutralem Agar wuchsen Typhusbacillen in teils glasigen, teils krustigen Kolonieen aus, während geringere und höhere Alkaleszenzgrade weniger gute Ergebnisse bezüglich der Entwickelung von Typhus- und Paratyphuskolonieen zeigten. Auch die hemmende Wirkung auf das Wachstum von B. coli und Coli-ähnlichen Bakterien erwies sich bei dieser Alkaleszenz als die günstigste.

Ich gehe nunmehr dazu über, mitzuteilen, wie sich die während meiner Untersuchung eingesandten bezw. geprüften typhusverdächtigen Materialien auf dem eben beschriebenen Grünnährboden verhielten. Im ganzen kamen 26 typhus- und paratyphusverdächtige Stuhlproben von Kranken auf Malachitgrünagar zur Untersuchung. In jedem Falle wurden Vergleichsaussaaten desselben Materials auf v. Drigalski-Conradi-Platten angelegt. Das Ergebnis dieser Arbeiten stellt sich zunächst hinsichtlich der Ermittelung von spezifischen Krankheitserregern derart, daß in 6 Fällen eine Paratyphusinfektion (Typ. B) nachgewiesen wurde, in einem weiteren echter Typhus, während bei 19 Proben die Prüfungen ergebnislos verliefen. Unter den 7 positiven Materialien nun haben 3 die Ueberlegenheit der Grünplatten gegenüber den Lackmus-Laktosenährböden schlagend dargetan, indem die Ermittelung der Krankheitserreger überhaupt nur mit Hilfe der ersteren gelang. Bei allen drei Stühlen handelte es sich um Paratyphus B. In 2 weiteren Fällen, einem Typhus und einem Paratyphus B, war gleichfalls eine Ueberlegenheit des Malachitgrüns feststellbar; denn die Krankheitserreger erschienen auf den Leuchs-Platten gegenüber den Drigalski-Agarschalen zahlreicher und infolge der starken Hemmung der Begleitbakterien fast in Reinkultur. Bei den übrigbleibenden beiden Paratyphusfällen war ein Unterschied zwischen den in Rede stehenden Isoliermethoden nicht zu erkennen. Hiernach ist in 3 von 7 positiven Fällen dem Malachitgrün allein der Erfolg zu danken; in den übrigen 4 positiven Proben leistete es zum mindesten das Gleiche wie der Lackmus-Laktoseagar.

Angesichts dieser für die Grünplatten so günstigen Feststellungen soll ein gegenteiliger Fall, welchen Vial (6) mitteilte, nicht unerwähnt bleiben. Diesem Autor gelang bei dem Stuhl eines Patienten, welcher wenige Tage vorher reichliche auf Malachitgrün (reines Oxalsalz) wie Drigalski-Agar gut auskeimende Typhusbacillen ausschied, der neuerliche Nachweis nur mit Hilfe des Lackmus-Laktoseagars. Den Grund sieht Vial in dem Unvermögen der in ihren Lebenseigenschaften bereits geschwächten Typhusbacillen, sich auf den die Entwickelung der Keime stärker als Kristallviolett hemmenden Malachitgrünböden noch durchzusetzen.

Gehen wir nun zu der zweiten Frage über, ob das Malachitgrün hinsichtlich der Entwickelungshemmung der Begleitbakterien die gehegten Erwartungen erfüllt hat, so ist dieselbe nur mit Einschränkung zu be-

jahen. Auffälligerweise ist zu trennen in Stühle mit positivem Nachweis von Krankheitserregern und in solche ohne diesen Befund. Während erstere in 5 von 7 Fällen eine ausgesprochen hemmende Wirkung des Malachitgrüns auf B. coli u. s. w. dartun, ist dieselbe bei der Mehrzahl der negativen Fälle nicht zu erkennen. Von letzteren waren es überhaupt nur 5, bei denen auf dem Malachitgrünagar das Wachstum von B. coli in einer solchen Weise gehemmt wurde, daß dieser Nährboden im Falle der Anwesenheit von Typhusbakterien gegenüber dem Lackmus-Milchzuckeragar Vorteile geboten hätte. Bei den übrigen 14 Proben ließ sich eine wesentliche Beeinflussung des Wachstums von Darmbakterien auf dem Malachitgrünagar, besonders ein Zurückhalten von Coli-Bakterien nicht feststellen. Ja, in 2 Fällen brachte vielmehr bei gleicher Aussaatmenge nur die v. Drigalski-Conradische Platte isoliert stehende Kolonieen.

Wenn somit nach dem Ausfall von 26 Stuhluntersuchungen der Leuchssche Malachitgrünagar auch als eine wertvolle Ergänzung der bisherigen Hilfsmittel für die Typhus- und Paratyphusdiagnose zu bezeichnen ist, so blieb der Erfolg immerhin beträchtlich hinter unseren Erwartungen zurück. Es wurde deshalb durch weitere, mit dem Malachitgrün nach den verschiedensten Seiten hin angestellte Versuche angestrebt, die Ergebnisse bei der Verwendung des Farbstoffes zum Typhusnachweis günstiger zu gestalten. Einen ausgesprochenen Erfolg hatten diese Bemühungen leider nicht, doch lassen verschiedene dabei sich ergebende Einzelheiten es als nicht unangebracht erscheinen, über die Versuche kurz zu berichten. Ich zog zunächst die von Leuchs bereits versuchten Konzentrationsänderungen in den Kreis meiner Prüfungen.

Da durch alleinige Steigerung des Malachitgrünzusatzes, wie schon eingangs erwähnt, eine Erhöhung der Brauchbarkeit wegen der zu starken Hemmung des Typhuswachstums nicht zu erzielen war, so hat man versucht, dieses Hindernis durch einen gleichfalls gesteigerten Dextrinzusatz abzuschwächen. In der Tat sollte hiermit ein Vorteil für die Typhusbacillen sich ergeben. Meine Versuche hatten dieses Ergebnis nicht; es wuchsen allerdings bei einem Agar, der 2 Proz. und 3 Proz. Dextrin enthielt, auch bei größeren Mengen von Malachitgrün noch Typhuskolonieen aus — selbst bei Zusatz von 4 ccm der 0,1-proz. Malachitgrünlösung zu 100 ccm Nährboden mit einem 4-proz. Dextringehalt wuchsen (allerdings erst nach 48 Stunden) noch vereinzelte, gut entwickelte Kolonieen aus — jedoch gedieh in allen Konzentrationen B. coli in gleicher Weise, so daß für unsere Zwecke hierin kein Vorteil zu sehen war. Durch Aenderung der Reaktion ist diese Veränderung des Bakterienwachstums in diesem Falle nicht verursacht; denn der Zusatz des Dextrins hat bei dessen geringem Säuregrad keine wesentliche Abschwächung des Alkaligrades des Agars zur Folge.

In Verfolg des gleichen Gedankens setzte ich anstatt einer größeren Dextrinmenge gallensauere Salze[1]) in verschiedener Menge dem Malachitgrünnährboden zu. Galle und gallensauere Salze sind in letzter Zeit von mehreren Seiten als Anreicherung für Typhusbakterien empfohlen worden und haben sich anscheinend sehr bewährt. Dieses veranlaßte

1) Fast den gleichen Gedanken hat Loeffler nach einer soeben in der Deutsch. med. Wochenschr. 1907. p. 1581 erschienenen Mitteilung mit gutem Erfolg in Verbindung mit seinem Bouillon-Nutrose-Malachitgrünagar zur Durchführung gebracht.

mich, von ihnen auch bei Stuhluntersuchungen eine einseitige Förderung der Typhusbakterien auf Nährböden mit höherem Grünzusatz zu erhoffen, obgleich mir wohl bekannt war, daß gallensauere Salze namentlich in England verschiedentlich auch für Züchtung von B. coli empfohlen worden sind. Ich benutzte als Zusatz eine 40-proz. Lösung von gallensaueren Salzen in Glycerin, wie sie Meyerstein (7) zur Typhusblutanreicherung empfiehlt; die gallensaueren Salze waren aus Rindergalle durch Eindampfen und Lösen mit Alkohol und nachfolgender Fällung mit Aether hergestellt. Beim Zusatz von 1—3 ccm dieser Gallenlösung zu 100 ccm Nährboden mit einem Malachitgrüngehalt bis zu 3,2 Proz. der 0,1-proz. Lösung wuchsen die Typhuskolonieen an Zahl unvermindert in saftigen, runden Formen. Es trat somit eine erhebliche Verbesserung des Wachstums auf, aber auch hier zeigte sich dasselbe wie bei höherem Dextrinzusatz. Das konkurrierende B. coli wuchs gleichfalls üppiger und wurde sogar teilweise noch mehr im Wachstum befördert wie Typhusbacillen.

Daß hierbei eine Veränderung der Reaktion des Agars eine Rolle spielt, ist ebenso wie bei dem Dextrinzusatz auszuschließen. Der Säuregrad der Gallenlösung ist nur um weniges höher wie der einer gleich großen Dextrinmenge, so daß die durch deren Zusatz bedingte geringe Abnahme der Alkaleszenz vernachlässigt werden kann.

Versuche, sodann durch Zusatz von Malachitgrün zu dem Lackmus-Nutrose-Milchzuckeragar (nach v. Drigalskischer Vorschrift) und umgekehrt durch Zusatz von Lackmus-Milchzuckerlösung zu dem Malachitgrünagar eine Unterscheidung der verschiedenen Bakterien durch Farbenreaktion herbeizuführen, blieben gleichfalls ergebnislos. Wie ich nachher erfuhr, waren Versuche nach dieser Richtung hin schon von Reischauer (8) mit demselben negativen Ergebnis ausgeführt worden. Die Kolonieen des B. coli waren zwar auch an Zahl und Größe gehemmt, doch konnten sie nicht ohne weiteres wie auf dem v. Drigalskischen Agar durch ihre rote Farbe als solche erkannt werden. Reischauer führt zur Erklärung dieser Tatsache an, B. coli verliere durch die Einwirkung des Malachitgrüns seine Fähigkeit, Zucker zu spalten. Ob dieses der Fall ist oder noch andere Prozesse dabei mitspielen, muß ich dahingestellt sein lassen. Jedenfalls wurde mit dieser Methode kein Vorteil erzielt.

Bei der praktischen Anwendung des Malachitgrünnährbodens hatte sich, wie erwähnt, die Beobachtung früherer Untersucher bestätigt, daß der Erfolg insofern ein sehr wechselnder ist, als bei einem Untersuchungsmaterial fast gar kein B. coli auf den Aussaatplatten auskeimt, während bei einem anderen die Platten von Coli-ähnlichen Kolonieen übersät sind. Dabei war der verwendete Nährboden stets in gleicher Weise zubereitet, auch bezüglich des Malachitgrünzusatzes und der Alkalisierung entsprechend verfahren worden. Hierdurch wurde wahrscheinlich, daß die Ursache in der Verschiedenheit der Bakterien selbst zu suchen sei. Es wurde deshalb mit einigen Versuchen auf diesen Punkt näher eingegangen und eine Anzahl von Coli-, Typhus- und Paratyphusreinkulturen auf ihre Empfindlichkeit gegen Malachitgrün geprüft.

Die Coli-Stämme waren teils in letzter Zeit, teils früher aus Wasser, Abwasser, Faeces und Tieren isoliert worden. Sie wuchsen alle üppig auf Drigalski-Agar unter lebhafter Säurebildung und besaßen die von B. coli verlangten Eigenschaften auf den verschiedenen Nährböden.

Im ganzen kamen 36 verschiedene Coli-Stämme zur Untersuchung. Bei Anwendung von Reinkulturen wurde, um einigermaßen gleichmäßige Bedingungen zu schaffen, in folgender Weise verfahren: Die frisch gegossenen, 1/2 Stunde im Brutschrank (37°) getrockneten Agarplatten wurden mit 1 Oese einer Bakterienaufschwemmung (1 Oese 24-stündige Agarkultur in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung) beschickt und das Material mit dem Glasspatel verrieben. Hierdurch erreichte ich eine gleichmäßige Impfung der Platten. Das Wachstum nach 24 bezw. 48 Stunden beurteilte ich nach Größe, Aussehen und Zahl der Kolonieen. Wenn dieses Verfahren vielleicht an Genauigkeit hinter dem der Zählung der Kolonieen zurücksteht, so erreichte ich doch bei allen Nachprüfungen ziemlich gleichmäßige Resultate. Auf der anderen Seite bot die Einfachheit der Methode die Möglichkeit, eine erheblich größere Anzahl von Versuchen anzustellen.

Bei mehreren zeitlich getrennten Ausführungen mit denselben Stämmen war das Ergebnis folgendes: Nur 10 der 36 Coli-Stämme zeigten auf dem Leuchsschen Malachitgrünagar entweder überhaupt kein oder sehr stark gehemmtes Wachstum. Die übrigen 26 Stämme wurden entweder gar nicht oder nur schwach beeinflußt. Zwischen alten Sammlungskulturen und frisch isolierten ergab sich kein Unterschied. Es sei bemerkt, daß sich diese Befunde bei allen Untersuchungen spezieller Art, wie z. B. bei höheren Malachitgrünzusätzen, anderer Reaktion des Agars u. s. w., bei denen stets einige der resistenten und der weniger widerstandsfähigen Stämme zur Aussaat kamen, gleichmäßig wiederholten. Dieses Verhalten dürfte die Erklärung bieten für die hinsichtlich der Coli-Hemmung untereinander stark abweichenden Ergebnisse unserer oben dargelegten Faecesuntersuchungen. Leider schränkt der Umstand, daß die Stühle, welche durch Malachitgrün wenig beeinflußbare Coli-Bakterien enthalten, anscheinend an Zahl stark überwiegen, den Wert der Malachitgrünnährböden in der angewandten Zubereitung stark ein.

Es war weiterhin von Interesse, festzustellen, ob diese verschiedene Empfindlichkeit sich auch bei Typhus- und Paratyphusstämmen zeigt. Abweichendes Verhalten verschiedener Typhusstämme auf demselben Malachitgrünagar ist von Klinger (3) und auch von Nowak (9) schon beschrieben worden, während Jorns (10) mit 6 verschiedenen Stämmen übereinstimmende Resultate erhielt.

Ich prüfte 9 Typhus- und 14 Paratyphuskulturen, und zwar auch wieder teils ältere, teils frisch isolierte. Von den Paratyphusstämmen gehörte 1 zum Typus Schottmüller A, 3 zum Enteritistypus (Gärtner) und 10 zum Typus Schottmüller B. Das Ergebnis war folgendes:

Auch die Typhusbacillen unterscheiden sich untereinander durch die verschiedene Empfindlichkeit gegen Malachitgrün, wenn auch nicht in so ausgesprochenem Maße wie B. coli; eine völlige Wachstumshemmung eines Stammes wurde niemals in einem Falle gesehen, in welchem ein anderer Stamm sich gut entwickelte. Auch insofern zeigte das Wachstum der Typhusstämme untereinander Verschiedenheit, als einige Stämme durchweg mehr in größeren, flacheren Kolonieen aufgingen, während die Mehrzahl sich als runde, glasige, oft auch krustige Kolonieen zu erkennen gab. Bei allen Stämmen wurde in den ersten 24 Stunden im Gegensatz zu den Beobachtungen Anderer (z. B. Loeffler) eine Entfärbung des Nährbodens anfänglich vermißt; doch trat diese meist nach 48 Stunden auf.

Von den Paratyphen zeigten die zum Typus Schottmüller B und Gärtner gehörenden Stämme untereinander wenig Verschiedenheiten im Wachstum; es wurde kein Stamm gefunden, der völlig oder nur in erheblichem Maße im Wachstum gehemmt worden wäre; wie ja auch von Lentz und Tietz das Malachitgrün gewissermaßen als Elektivboden für Paratyphuskeime herausgefunden worden ist. Auch zeigten sich die verschiedenen Stämme nicht sehr empfindlich gegen geringe Aenderung des Malachitgrünzusatzes und der Reaktion des Agars, während bei der Aussaat von Typhusbacillen schon ein geringer Unterschied in diesen Faktoren andere Wachstumsergebnisse zur Folge hatte. Die Kolonieen waren bei den Paratyphen üppig, rund, nicht durchscheinend und ließen durch Entfärbung des Grüns im Umkreis der Kolonie diese hellgesäumt erscheinen.

Paratyphus Typus Schottmüller A verhielt sich in seinem Wachstum sowohl wie in der Empfindlichkeit gegen Aenderung des Nährbodens mehr wie Typhus, ohne jedoch jemals die bei Typhus beobachteten krustigen Kolonieen zu bilden; vielmehr waren diese stets saftig und rund, hatten aber wiederum im Gegensatz zu Typus Schottmüller B und Gärtner ein mehr durchscheinendes, glasiges Aussehen. Die Entfärbung des Agars trat ähnlich wie bei Typhus erst spät auf. Demnach scheint auch nach meinen Untersuchungen mit Krankenstühlen und Reinkulturen der Malachitboden (Leuchs) für Paratyphusbacillennachweis geeigneter zu sein wie für Typhus. Lentz und Tietz messen dem Malachitgrün ja auch geradezu eine elektive Wirkung für Paratyphuskeime (Typus B) bei. Zu bedauern ist nur, daß die Paratyphuskolonieen nichts Charakteristisches gegenüber den sich häufig gleichfalls reichlich entwickelnden Coli-Kolonieen aufweisen.

Von Wichtigkeit war schließlich auch die Frage, ob sich fertiger Leuchsscher Malachitgrünagar durch längeres Aufbewahren und öfteres Erhitzen erheblich in seiner Wirkung ändere. Ich fand bei einer Reihe von Versuchen im Gegensatz zu Leuchs, daß die wachstumshemmende Wirkung für Bakterien bei längerem Aufbewahren sowie bei Erhitzen abnimmt. Diese Erscheinung dürfte in folgenden Tatsachen begründet sein: Lentz und Tietz (5) führten an, daß das von ihnen benutzte „Malachitgrün I" bei Zusatz zu einem Nährboden, der eine Alkalinität von 1 Proz. Normal-Natronlauge hatte, völlig aufgehellt wurde und mit dieser Reduktion seine entwickelungshemmenden Eigenschaften für B. coli völlig verliere. Sie benutzten stets neutralen Nährboden, bei dem diese Aufhellung nicht eintrat. Bei meinen diesbezüglichen Untersuchungen zeigte sich bei einer der oben angeführten gleichen Alkalinität gerade die stärkste entwickelungshemmende Wirkung für B. coli. Eine Reduktion des Farbstoffes aber trat nicht ein, da ich zum Alkalisieren Normal-Sodalösung benutzte. Es erklärt sich letzteres so: Die schwache Säure des Farbstoffes wird durch freies Alkali, wie Aetznatron, sehr schnell unter Bildung der farblosen Leukobase gebunden; schon ganz geringe Mengen freien Alkalis genügen, um in kürzester Zeit die Lösung von 1,6 Malachitgrün in 100 Teilen Wasser völlig in der Kälte zu entfärben. Anders verhält sich der Farbstoff gegen Sodalösung. insofern als die Säure des Malachitgrüns nicht sofort die Kohlensäure der Soda austreibt. Es bleibt auch bei einem Zusatz von Normal-Sodalösung im Verhältnis von 1:100 die Farblösung bei Zimmertemperatur einige Zeit unverändert. Beim Erhitzen aber tritt unter Kohlensäureentwickelung Entfärbung der Lösung ein, ein Vorgang, der entsprechend bei längerem

Stehen auch in der Kälte allmählich sich vollzieht. Damit ist die Abnahme der hemmenden Kraft des Malachitgrüns beim Erhitzen sowohl wie bei längerem Stehen erklärt.

Es haben sich hieraus für die Nährbodenbereitung einige Punkte ergeben, auf die im Interesse eines gleichmäßigen Ausfalles der Untersuchungen zu achten ist; ich komme am Schlusse hierauf zurück.

Auf Grund der Untersuchungen, über die im Vorliegenden berichtet wurde, komme ich zu dem Ergebnis, daß das Malachitgrün als Zusatz zu Nährböden bei der Typhus- und besonders der Paratyphusuntersuchung eine wertvolle Unterstüzung bietet.

Das unsererseits benutzte Malachitgrün „Kristalle extra" (Höchst) hat sich in verschieden lange aufbewahrten Proben, die zu verschiedenen Zeiten von der Fabrik bezogen worden waren, gleichwirkend gezeigt. Das Präparat erfüllt infolgedessen die Forderung der Gleichmäßigkeit in der Wirksamkeit.

Der Zusatz von 1,6 ccm einer 0,1-proz. Lösung von Malachitgrün „Kristalle extra" zu 100 ccm Agar, der nach der Vorschrift von Leuchs bereitet und alkalisiert ist, hat sich als der geeignetste erwiesen. Coli- und Coli-ähnliche Bakterien werden zum Teil zu Gunsten von Typhus- und Paratyphusbakterien im Wachstum gehemmt; jedoch gibt es eine große Anzahl zu dieser Klasse gehörende Stämme, die sich Malachitgrün gegenüber resistent verhalten und den Nachweis der erwähnten pathogenen Bakterien stören oder vereiteln.

Typhusbakterien wachsen in zarten, glasigen, teils runden, teils gezackten Kolonieen aus und erscheinen oft krustig. Paratyphusbacillen wachsen in dichteren, üppigeren, runden Kolonieen und entfärben das Malachitgrün ebenso wie Coli-Bacillen im Umkreis der Kolonieen. Typus Schottmüller A nimmt in seinem Wachstum auf Malachitgrünagar eine Mittelstellung zwischen Typhus und Paratyphus B und Gärtner ein.

Bei der Herstellung des Agars empfiehlt es sich, in Anbetracht, daß Malachitgrün in alkalischer Lösung (Normal-Sodalösung!) in der Hitze schnell, in der Kälte langsam reduziert wird und dadurch seine Wirksamkeit einbüßt, in folgender Weise vorzugehen: Der nach Vorschrift bereitete alkalisierte Dextrinagar wird sterilisiert und in 100 ccm-Kölbchen gefällt; zum Gebrauch wird die erforderliche Anzahl der Agarkölbchen verflüssigt und die frisch, mit warmem, sterilem, destilliertem Wasser bereitete Malachitgrünlösung zugegeben; der Agar wird nun sofort in Platten ausgegossen, und diese werden vor der Impfung leicht getrocknet.

Bietet auch das Malachitgrünverfahren bei der Typhus- und besonders bei der Paratyphusuntersuchung eine wertvolle Bereicherung der bisherigen Nachweismethoden, so ist es doch keineswegs im stande, die bisher gebräuchlichen Nährböden, besonders den v. Drigalski-Conradischen Agar, völlig zu verdrängen. Jedoch werden bei Einführung des Verfahrens neben dem letztgenannten Agar in manchen der bisher ergebnislos verlaufenden Untersuchungen positive Befunde zu verzeichnen sein. In einer größeren Anzahl von Untersuchungen wird zudem das Auffinden der Krankheitserreger sehr erleichtert werden, so daß damit ein Aequivalent für die mehr Sorgfalt erfordernde Herstellung des Agars geboten ist.

Es empfiehlt sich deshalb, bei Untersuchungen typhusverdächtigen Materials neben den bisher gebräuchlichen Plattenserien auch eine Reihe

auf Malachitgrünagar auszustreichen. Auf leicht getrocknetem Agar läßt sich in Anbetracht, daß immerhin eine erhebliche Wachstumshemmung der nicht pathogenen Darmbakterien zu erwarten ist, die 2—3-fache Menge von Untersuchungsmaterial wie auf den anderen Agarplatten aussäen. Im hiesigen Institut hat sich diese Untersuchungsmethode bisher bestens bewährt.

Literatur.

1) Loeffler, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 3. Vereinsbeilage.
2) Leuchs, Deutsche med. Wochenschr. 1906.
3) Klinger, Arb. a. d. kaiserl. Ges.-Amt. Bd. XXIV. 1906. Heft 1.
4) Lentz und Tietz, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 49.
5) — —, Beiträge zur Typhusforschung. (Kleins Jahrb. 1905.)
6) Vial, Hyg. Rundschau. Bd. XVII. 1907. No. 12. p. 707.
7) Meyerstein, Münch. med. Wochenschr. 1906.
8) Reischauer, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. Heft 1.
9) Nowak, Arch. f. Hyg. Bd. LIII.
10) Jorns, Hyg. Rundschau. 1904. No. 15.

Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Darmbakterien

mit besonderer Berücksichtigung der Typhusbacillen.

Vorläufige Mitteilung[1]).

Von Bezirksarzt Ober-Med.-Rat Dr. **W. Hesse** in Dresden.

Das Verfahren gründet sich

1) auf das eigentümliche Wachstum der Bakterien in sehr weichem Nährboden und
2) auf die Herstellung von Plattenserien aus systematischen Verdünnungen des zu untersuchenden Materiales (Darminhalt).

Für die Untersuchung von Stuhlproben auf Typhus- und Paratyphusbacillen hat sich ein Nährboden von folgender Zusammensetzung bewährt:

Agar-Agar	5	g
Pepton Witte	10	„
Liebigs Fleischextrakt	5	„
Kochsalz	8,5	„
dest. Wasser	1000	„

Dieser Nährboden wird in Portionen von genau 10 ccm in Reagiergläser verteilt, die beim Sterilisieren kein Alkali abgeben. Er unterscheidet sich demnach von gewöhnlichem Nähr-Agar-Agar dadurch, daß er nur 0,5 Proz. Agar-Agar enthält und infolge der Unterlassung eines Alkalizusatzes neutral oder schwach sauer ist.

Die Anlegung der Verdünnungsplatten geschieht in folgender Weise: Aus einem Vorrate sterilisierter großer, mit je 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung versehener Reagiergläser und steriler Petri-Doppelschalen werden je 8 beziffert und nebeneinander aufgestellt.

1) Aus einem gelegentlich der Naturforscherversammlung zu Dresden im Jahre 1907 gehaltenen Vortrage.

In das Reagierglas 1 kommt 1 g oder 1 ccm der zu untersuchenden möglichst frischen Stuhlprobe. Aus dem Glase 1 wird nach sorgfältigem Durchmischen seines Inhaltes je 1 ccm in die Petri-Schale 1 und in das Glas 2 übertragen.

Aus dem Glase 2 kommt je 1 ccm in die Petri-Schale 2 und in das Glas 3, und so fort bis zur Petri-Schale 8.

Hiernach werden jeder Petri-Schale 10 ccm des unter 2 beschriebenen, flüssig gemachten und auf 40° C abgekühlten Nährbodens zugesetzt und danach sofort durch etwa 20maliges Schwenken der Schale mit dem vorausgegangenen Zusatz innig vermischt.

Die Verarbeitung einer Stuhlprobe nach diesem Verfahren nimmt etwa 20 Minuten in Anspruch.

Nach dem Erstarren des Gemisches kommen die Platten $^1/_2$—1 Tag in den Brütofen.

Die Petri-Schale	1	enthält hiernach den	10.	Teil der Stuhlprobe
„ „	2	„ „ „	100.	„ „ „
„ „	3	„ „ „	1000.	„ „ „
„ „	4	„ „ „	10000.	„ „ „
„ „	5	„ „ „	100000.	„ „ „
„ „	6	„ „ „	1000000.	„ „ „
„ „	7	„ „ „	10000000.	„ „ „
„ „	8	„ „ „	100000000.	„ „ „

oder mit anderen Worten: Wenn in der Petri-Schale 8 1 Kolonie auswächst, so enthielt 1 ccm der Stuhlprobe 100000000 Keime derselben Art. Diese eine Kolonie zeigt demnach nicht nur an, wieviel Keime einer bestimmten Bakterienart 1 ccm der Stuhlprobe enthielt, sondern zugleich auch, welche Bakterienart in der Stuhlprobe vorherrschte. Ist die eine in der 8. Platte ausgewachsene Kolonie eine Typhusbacillenkolonie, so enthielt 1 ccm der Stuhlprobe 100000000 Typhusbacillen. — Die Betrachtung der Platten lehrt, welches andere Bakterium das nächst häufige in der Stuhlprobe ist, und in welcher Menge es vorhanden ist u. s. f. Ist die zu untersuchende Stuhlprobe flüssig oder alt, so tut man gut, Serien von 9 Platten anzulegen. Es ist ein Vorzug des Verfahrens, daß jede in der Stuhlprobe enthaltene und in dem Nährboden zu Kolonieen auswachsende Bakterienart in einer der Platten als Einer zur Entwickelung kommt und hier, falls die Kolonieen charakteristische Merkmale besitzen, am leichtesten festzustellen ist.

Die Feststellung der Art der Bakterien wird wesentlich erleichtert durch ihr Verhalten in dem angewendeten Nährboden.

Manche Bakterien, darunter die Typhusbacillen, wachsen darin in ganz eigentümlicher Weise. Sie wachsen nicht nur zu umso größeren Kolonieen aus, je vereinzelter sie liegen, je mehr Platz und Nährboden ihnen zur Verfügung steht, sondern die Kolonieen haben auch ein ganz eigenartiges Aussehen. Z. B. wachsen Typhus- und Paratyphusbacillen in Platten, in denen sie allein und nur zu Einern liegen, binnen 24 Stunden zu Kolonieen von mehreren Centimetern Durchmesser aus, und sie unterscheiden sich z. B. von Coli-Bakterien dadurch, daß sie zwischen einem weiß gefärbten Zentrum und einem kreisrunden schmalen, weißen Saum eine breite, kaum getrübte Zone einschließen.

Von diesem Verhalten kann man sich am besten durch Plattenserien überzeugen, die mit 1 Oese Typhus- oder Paratyphusbacillen-Reinkultur hergestellt sind.

Der Vergleich von Stuhlplattenserien mit einer Typhusbacillen-

Reinkulturserie gibt aber einen weiteren Anhalt für das Auffinden der Typhusbacillenkolonieen in den Stuhlplatten, insofern infolge der verschieden dichten Lagerung der Typhusbacillen die Kolonieen in jeder Platte ein anderes, aber typisches Aussehen haben. Die Verschiedenheiten im Aussehen der Kolonieen in den verschiedenen Platten einer Serie kommt allerdings bei Verwendung festeren und alkalischen Nährbodens viel deutlicher zum Ausdruck; für die Feststellung der Typhusbacillenkolonieen ist damit aber nichts gewonnen, weil gewisse Coli-Bakterien in solchem Nährboden den Typhusbacillenkolonieen sehr ähneln.

Wegen der großen Schwankungen in Größe und Aussehen der Kolonieen, die die geringste Aenderung der Konsistenz des Nähr-Agar-Agars mit sich bringt, empfiehlt es sich, den Agar-Agar vor Herstellung des Nährbodens auf dem Brutofen zu trocknen, wobei er etwa 10 Proz. seines Gewichtes einbüßt, und dann erst die benötigte Menge desselben abzuwiegen.

Bei Verwendung ungetrockneten Agar-Agars kann es leicht geschehen, daß ein einziger in die letzte Platte gelangter Typhuskeim binnen 24 Stunden die ganze Platte von 9 cm Durchmesser durch- und überwuchert, dabei aber die Kolonie ihres typischen Aussehens verlustig geht. — So leicht es ist, z. B. Typhusbacillenkolonieen, die einzeln und allein in Platten zum Auswachsen gekommen sind, auch mittels Serum zu erkennen, so schwierig gelingt der Nachweis, wenn die Stuhlprobe nur wenige Typhusbacillen, dagegen massenhafte typhusähnliche bewegliche Coli-Bakterien enthält.

Zwischen diesen beiden Extremen liegt aber eine große Reihe von Fällen, in denen trotz geringer Zahl von Typhusbacillen und Vorhandenseins massenhafter Coli-Bakterien der Nachweis der Typhusbacillen gelingt, und zwar in allen den Fällen, in denen die Coli-Bakterien anders gestaltet als Typhusbacillen oder unbeweglich sind.

Hier entscheidet der Zusatz von Typhusserum in der Regel augenblicklich. In derartigen Fällen erscheinen die Typhusbacillenkolonieen in den mit Kolonieen dicht besetzten Platten als gleichförmige weißliche Kolonieen von 1—2 cm Durchmesser.

Zum Zwecke des Nachweises der Typhusbacillen verfahre ich so, daß ich einen Teil der verdächtigen Kolonieen in eine Glaskapillare einlaufen lasse, davon ein Tröpfchen auf ein Deckglas gebe, dasselbe in der feuchten Kammer unter dem Mikroskop betrachte und, falls bewegliche typhusbacillenähnliche Stäbchen vorhanden sind, 1 Tropfen Typhusserum (1 : 1000) zusetze. Stellen hiernach die beweglichen Bakterien alsbald ihre Bewegung ein, bezw. tritt Agglutination ein, so ist der Nachweis der Typhusbacillen erbracht.

Wie Typhusbacillen zeigen auch andere Darmbakterien in dem beschriebenen Nährboden ein eigentümliches Wachstum. Es eignet sich demnach das Verfahren, bezw. unter Abänderung der Zusammensetzung des Nährbodens, zur Erforschung der Darmbakterien überhaupt, insbesondere auch nach der quantitativen Seite.

Ueber die Ergebnisse, die ich bei gegen 800 mit diesem Verfahren untersuchten Stühlen Typhuskranker oder Typhusverdächtiger gewonnen habe, gedenke ich an anderer Stelle zu berichten.

Gegenwärtig liegt mir nur daran, weitere Kreise mit dem Verfahren behufs Nachprüfung desselben bekannt zu machen.

Erwähnen will ich hier nur noch, daß die Typhusbacillen selbst in

den verschiedenen Platten ein und derselben Serie ein sehr verschiedenes Verhalten zeigen insofern, als je weiter die Kolonieen auseinander liegen, um so länger und beweglicher die Bacillen sind, daß also u. a. die Lagerung der Bacillen und der Nährboden von wesentlichem Einfluß auf die Länge und Beweglichkeit der Bacillen sind, ferner daß in größeren Typhusbacillenkolonieen die Bacillen des Saumes die 2—3fache Länge der Bacillen des Zentrums besitzen.

Mittel, um oberflächliche Bakterienkolonieen zu photographieren.

Von Dr. **L. de Jager,** prakt. Arzt zu Stiens (Niederlande).

Mit 5 Figuren.

Es gibt mehrere Schizomyceten, welche in Plattenkulturen auf der Oberfläche größere, kaum sichtbare Auflagerungen bilden, oft von ganz besonderer Form. Es ist mir kein Mittel bekannt, dieselben zu reproduzieren. Direkte photographische Aufnahme gelingt nicht, weil die Auflagerungen fast durchsichtig sind und nur gegen einen dunkeln Hintergrund bei schiefer Beleuchtung betrachtet werden können.

Um diese Kolonieen zu reproduzieren, habe ich folgendes Verfahren ausgearbeitet:

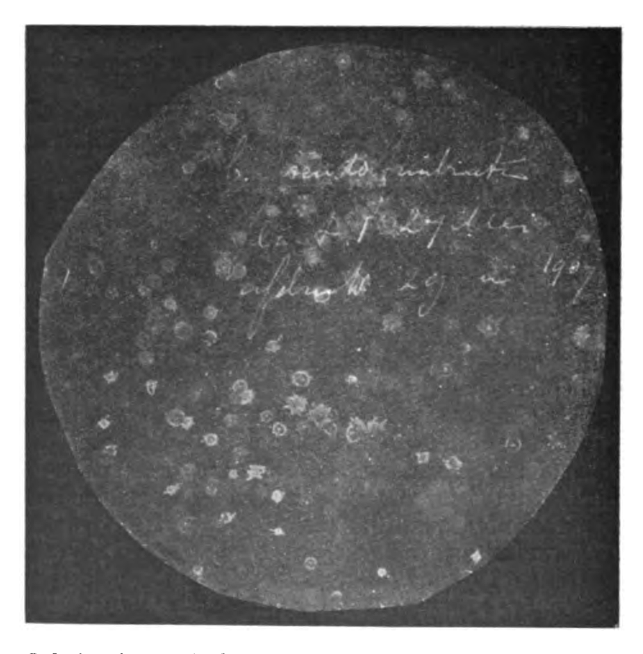


Fig. 1. Gelatineplatte mit kleinen, zum Teil gewimperten Kolonieen, welche zu verflüssigen anfangen.

Es wird auf die Oberfläche der Gelatine- oder Agarkultur ein Stück glattes, dünnes, gut geleimtes Papier angeklebt und wieder abgezogen, ganz als wollte man einen hektographischen Abdruck anfertigen. Die ganze oberflächliche Kolonie klebt sich an das Papier an. Dieses wird



Fig. 2.

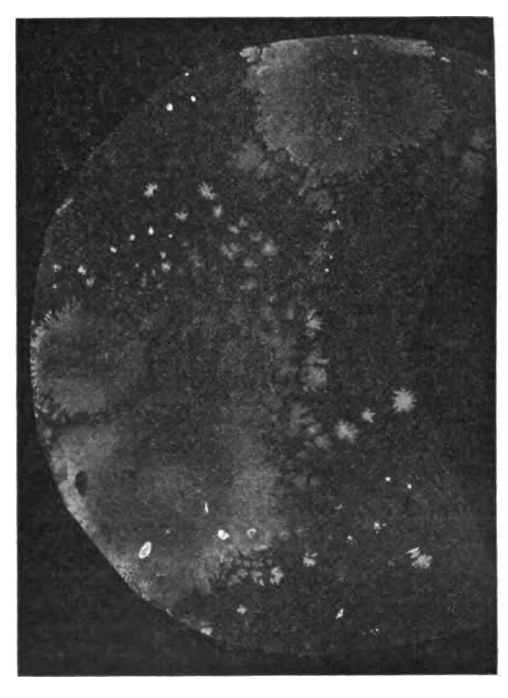


Fig. 3.

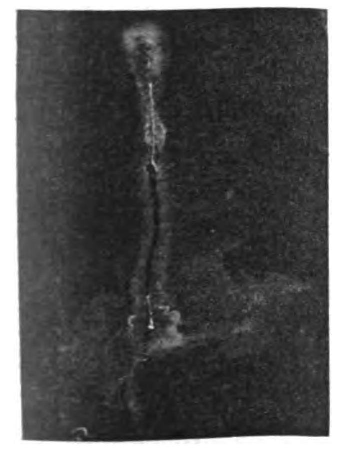


Fig. 4.

Fig. 2. Gelatineplatte einer zweiten Bacillenart.

Fig. 3. Gelatineplatte einer dritten Bacillenart.

Fig. 4. Agarplatte mit zwei verschiedenen Kolonieen.

Fig. 5. Agarstrichkultur von Fig. 2.

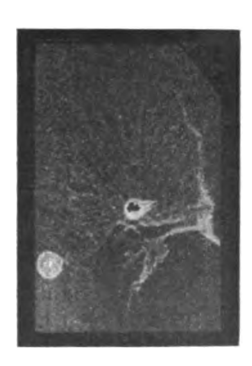


Fig. 5.

getrocknet und wie ein Deckglas flambiert, bis es eine gelbliche Farbe angenommen hat. Darauf wird das Papier mit einer Schicht konzentrierter Toluidinblaulösung bedeckt. Dieser Farbstoff färbt schnell und dunkel. Die Kolonieen färben sich dunkelblau und das Papier wird etwas gebläut. Um zu verhindern, daß die Farbstofflösung auch die Unterseite des Papieres färbt, lege man es auf Filtrierpapier. Nach

einigen Minuten wird die Farbstofflösung entfernt, in Wasser gespült und mit kochendem Wasser nachgespült. Man kann das Papier ohne Schaden einige Zeit in heißem Wasser liegen lassen.

Man hat jetzt einen sehr schönen Abklatsch der oberflächlichen Kolonieen auf Papier; zur Reproduktion ist derselbe aber nicht geeignet.

Das Papier wird mit Oel durchtränkt, wodurch es ganz durchsichtig wird und als Negativ zu photographischen Abdrücken benutzt werden kann. Um zu verhindern, daß das Celloidinpapier Oelflecke bekommt, lege ich zwischen beide Papiere eine dünne Kollodiumhaut. Diese wird einfach angefertigt, indem man in eine Entwickelungsschale Collodium elasticum gießt und das überflüssige Kollodium wieder ausgießt. Es bleibt dann eine dünne Schicht Kollodium zurück, welche, nachdem sie trocken ist, leicht abgehoben werden kann. Eine zu dicke Schicht Kollodium wird undurchsichtig.

Die beigegebenen Reproduktionen sind von 3 Bacillen, welche ich kultiviert habe, die vermutlich zu der Gruppe der Mycoides gehören.

Mit einiger Uebung gelingt die Prozedur leicht. Nur hat man bei der Anfertigung des Abklatsches auf einige Dinge zu achten. Die Oberfläche von Agar oder Gelatine muß trocken sein, weil sonst die Konturen verwischt werden. Das Papier läßt sich von einer Agarplatte immer leicht abheben. Bei Gelatineplatten kommt es vor, daß Stückchen Gelatine mit abgerissen werden; je kälter die Gelatine ist, je besser es gelingt [1]). Etwaige Gelatinepartikel dürfen nicht mit fixiert werden, man entferne dieselben oder schneide das Papier mit diesen Stückchen ab. Das Papier muß gehörig fixiert werden, weil sonst die Färbung mißlingt. Am besten ist es, daß Papier vor ein Feuer zu halten; über der Flamme besteht die Gefahr, daß das Papier zu brennen anfängt, obwohl dieses sich bei einiger Uebung vermeiden läßt. Das Papier darf nicht mit den Fingern berührt werden, weil sonst beim Färben die Fingerabdrücke sichtbar werden.

Zur Färbung werden wohl auch andere Anilinfarben brauchbar sein. Weil Toluidinblau sehr schöne Resultate gibt, habe ich keine anderen Farbstoffe benutzt.

Verfahren zur sterilen Blutentnahme.

Von Dr. **J. J. van Loghem**, Amsterdam.

Mit 2 Figuren.

Seit zwei Jahren benutzte ich zur sterilen Entnahme größerer Mengen Blutes aus den Carotiden (oder Jugularvenen) von Kaninchen und Caviae ein Verfahren, das sehr wenig Zeit in Anspruch nimmt und keine technischen Schwierigkeiten bietet.

Zur Vermeidung der Blutgerinnung, welche beim Gebrauch von dünnen, in die Gefäße hineingeführten Kanülen nicht so selten beobachtet wird, bringe ich die Kanülen nicht in die Arterie oder Vene, sondern ich ziehe das Gefäß mittels eines Fadens in die Kanüle hinein.

---

1) Es gelingt leichter bei 10 Proz. als bei 5 Proz. Gelatine.

Als Kanülen kommen einfache Glasröhrchen von etwa 10 cm Länge und etwa 0,5 cm Durchmesser zur Verwendung. Sie behalten einen Faden, welcher an dem einen Ende eine umgebogene Stecknadel trägt. Kanüle, Faden und Stecknadel werden in dieser Weise zusammen sterilisiert (Fig. 1).

Man präpariert eine der Carotiden möglichst peripher frei, unterbindet das Gefäß peripher und appliziert eine kleine Klemme einige Millimeter zentralwärts von der Unterbindungsstelle. Der Assistent präsentiert jetzt die mit Faden und Stecknadel versehene Kanüle (in der Mitte zwischen Finger und Daumen gefaßt: Sterilität!) und der Operateur faßt mit steriler Pinzette die hakenförmige Stecknadel und sticht dieselbe in die Wand der Carotis, zwischen Unterbindungs- und Abklemmungsstelle; jetzt durchschneidet er das Gefäß mit der Schere

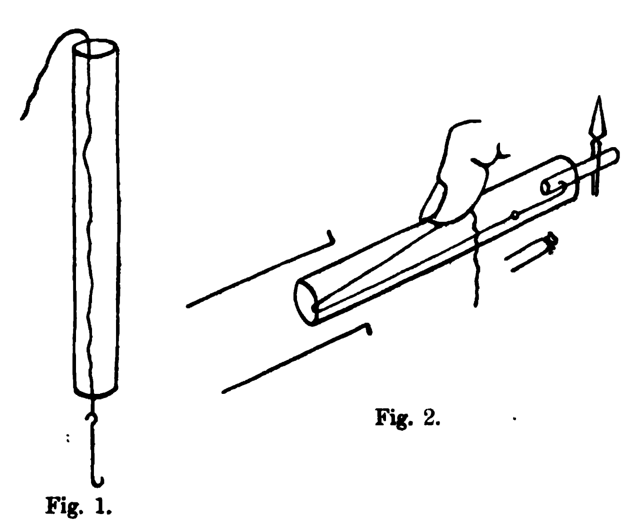


Fig. 1. Fig. 2.

zwischen der Stecknadel und der Unterbindungsstelle, übernimmt mit seiner linken Hand die Kanüle, faßt das freie Ende (ohne Haken) des Fadens mit der rechten Hand und zieht den angehakten Gefäßstumpf in die Kanüle hinein. Dann nimmt der Operateur die Kanüle in seiner rechten Hand, zugleich mit dem Daumen den Faden fixierend (Fig. 2), und öffnet mit der linken die Klemme. Das Blut spritzt durch die Kanüle in den vom Assistenten gehaltenen Kolben oder Reagenzröhrchen. Ist das gewünschte Quantum erreicht, so schließt man die Klemme, unterbindet den Stumpf, entfernt die Stecknadel u. s. w.; bei der nächsten Blutentnahme kann man dieselbe Carotis noch einmal öffnen; man braucht nur einen oft ziemlich langen Thrombus aus dem zentralen Gefäßende zu entfernen. Die andere Carotis kann man auch zweimal benutzen, und schließlich die Jugularvenen. Es ist mir gelungen, auf diese Weise einem selben Kaninchen im Verlauf von mehreren Monaten 5mal größere Mengen Blut zu entnehmen.

Inhalt.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Ueber eine an Menschen und Ratten beobachtete Mykose.

Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Sporothrichosen.

Zweiter Teil.

Von Dr. **A. Lutz** und Dr. **A. Splendore** in S. Paulo (Brasilien).

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

(Schluß.)

Kartoffel; Temperatur der Umgebung. Nach 2 Tagen zeigen sich an der Oberfläche hervorragende Kolonieen von feuchtem Aussehen. Das Kondenswasser ist trübe, mit spärlichem kompakten Sediment und schwimmenden Flocken. Die Kolonieen der Oberfläche bewahren immer dieselben Eigenschaften und vergrößern allmählich ihr Volumen, so daß einige am 15. Tage eine Ausdehnung von mehr als 2 mm erreichen, ein Zeitpunkt, an dem verschiedene flockig zu werden beginnen; in den folgenden Tagen werden sie allmählich braun und dann schwärzlich.

Bei der Temperatur von 37° beginnen die Kolonieen nach 2 Tagen in derselben Weise aufzutreten, am 4. Tage sieht man an den trockenen Rändern der Kartoffel einige Kolonieen von weißlichem, kalkigem Aussehen, die von Strahlen an der Peripherie umgeben sind. Die Schwärzung beginnt nach dem 15. Tage. Im Brutofen bei 28° vollzieht sich diese Entwickelung in ungefähr 1 Woche.

Erstarrtes Pferdeserum; Strichkultur. Sowohl bei der Temperatur der Umgebung als auch im Brutofen bei 37° und 28° entwickeln sich die Kolonieen spärlich und ein wenig langsam, und zwar beginnen sie in runder, feuchter, granulierter Form, um sich nach einigen Tagen in rissige und flockige Formen umzuwandeln, die sich in der Temperatur der Umgebung nach 15, im Brutofen bei 37° nach 25 und bei 28° nach 8 oder 10 Tagen schwarz färben.

Erstarrtes Menschenserum; bei verschiedenen Temperaturen. Es erscheinen auf dem Impfstriche 8 oder 10 Tage nach der Impfung nur 1 oder 2 Kolonieen, die ein weißes, feuchtes Aussehen und einen perlgrauen Glanz haben. Am stärksten sind diese Kolonieen gegen den 15. Tag hin entwickelt; sie haben dann eine Ausdehnung von ungefähr 2 mm und sind ziemlich erhaben. Lange Zeit hindurch bleiben die Kolonieen in diesem Zustande und zeigen keine andere Veränderung als eine leichte Einsenkung in ihrem obersten Teile. Nach mehr als 1 Monat sieht man bei der mikroskopischen Beobachtung eine Umwandlung der Torula-Formen in Uebergangsformen. Eine Andeutung von Braunfärbung beginnt sich ungefähr nach 60 Tagen zu zeigen.

Auf den verschiedenen flüssigen Nährböden, wie 2-proz. Peptonwasser, einfache, traubenzucker- oder glycerinhaltige Bouillon, Infus von Secale cornutum mit Traubenzucker, sowohl mit alkalischer als auch mit neutraler oder saurer Reaktion, geht im großen und ganzen die Entwickelung in gleichem Maße langsam vor sich; sie ist jedoch im allgemeinen etwas spärlicher und langsamer auf den sauren und bei einer Temperatur von 37° gehaltenen Nährböden, üppiger und rascher

dagegen bei 28°, und zwar besonders in Peptonwasser und in traubenzucker- oder glycerinhaltigen Nährböden mit schwach alkalischer oder neutraler Reaktion. Gewöhnlich beginnt in allen flüssigen Medien die Entwickelung in Form eines mehr oder weniger flockigen Sedimentes; die Flüssigkeit des Nährmediums bleibt immer durchsichtig. Die Oberfläche zeigt sich nach einer Zeit, die zwischen 10 und 15—20 Tagen schwankt, ebenfalls mit flockigen und weißlichen Kolonieen bedeckt, die sich bei der Temperatur der Umgebung nach etwa 20, bei 37° nach 30 oder 40 und bei 28° nach 8 oder 10 Tagen schwärzlich färben.

In leicht saurem Malzinfus zeigt sich bei den verschiedenen Temperaturen vom 2. Tage ab ein kompaktes Sediment und eine Entwickelung von Gasbläschen, besonders im Brutofen bei 37°. Darauf wird das Sediment sehr rasch voluminöser und es treten flockige Kolonieen in den ersten Tagen am Grunde und später auch an der Oberfläche auf, wobei die Flüssigkeit des Nährmediums immer klar und durchsichtig bleibt. Die Erscheinung des Schwarzwerdens beginnt bei der Temperatur der Umgebung nach 2 Wochen, bei 37° nach 20 Tagen und bei 28° nach 1 Woche. Die Gasentwickelung, welche manchmal beträchtlich ist, ist nicht immer konstant, sondern fehlt in den meisten Fällen, obgleich der Nährboden immer derselbe ist.

In Milch ist die Entwickelung bei den verschiedenen Temperaturen sehr spärlich und beginnt fast immer mit einem kleinen Sediment, das sich am Boden nach ungefähr 1 Woche bemerkbar macht. Bei der Temperatur der Umgebung erscheinen gegen den 10. Tag hin einige kleine, runde, glänzende, durchsichtige und granulierte Kolonieen an den Wänden des Röhrchens, wie man bei Verschiebung der Flüssigkeitssäule bemerken kann; dieselben werden in ungefähr 2 Wochen flockig. Gleichzeitig treten flockige, weißliche Kolonieen auch auf der Oberfläche der Flüssigkeit auf, welche alle nach 20 Tagen schwarz zu werden beginnen. Diese Entwickelung tritt in ungefähr 20 Tagen im Brutofen bei 37° und in 5 oder 6 Tagen bei 28° ein. Eine Koagulierung der Milch beobachtet man nie.

Die mit Farbstoffen versehenen Nährböden wie das Endosche Fuchsinagar, das Rothbergersche flüssige Neutralrotagar und das Petruschkysche Serum, auf denen der Mikroorganismus sehr gut wächst, haben keine Farbenänderung gezeigt. Auf dem Neutralrotagar nehmen die Torula- und Uebergangsformen bei ihrer Entwickelung die Farbe des Nährbodens an.

Geht man anstatt von den weißen, perlgrauen Kolonieen mit Torula-Formen von den schwarzen in Sporulation befindlichen Kolonieen aus, so vollzieht sich die Entwickelung der überimpften Kulturen viel rascher, so daß manchmal die ganze Entwickelung in weniger als 1 Woche vollendet ist. Im Brutofen bei 28° tritt die Schwarzfärbung der neuen Kulturen schon am 5. Tage ein, besonders in den traubenzuckerhaltigen Nährböden, in Milch und auf Kartoffeln. Es ist zu bemerken, daß man in dieser Reihe von Ueberimpfungen, die von schwarzen Sporen herrühren, sehr selten das erste Stadium mit Torula-Formen beobachtet, während die neuen Kolonieen meistens direkt in dem Faden- oder Flockenstadium auftreten. Einige spärliche, runde und glatte Kolonieen mit Torula-Formen sieht man nur auf dem feuchteren Teile der Oberfläche der Agarkulturen in der Nähe des Kondenswassers, eine Erscheinung, die wir besonders bei Malzagar beobachtet haben.

Infektionsversuche mit dem Rattenvirus.

Die Anzahl der Versuchstiere betrug im ganzen 34, und zwar wurden folgende Tiere verwendet: 10 weiße, 4 schwarze Ratten (Mus decumanus), 1 Hausratte (Mus rattus), 1 Hausmaus (Mus musculus), 2 Meerschweinchen, 2 Kaninchen, 4 Beutelratten (Didelphys azarae), 1 Waldhase, 2 Katzen, 2 Hunde, 1 Waldtaube, 1 Eule, 1 Stelzenläufer, 1 Kröte und 1 Eidechse. Von den weißen und schwarzen Mäusen und Ratten fielen alle, abgesehen von der Hausmaus, der Infektion anheim, obgleich das Infektionsmaterial verschieden war, da es teils von spontan oder künstlich infizierten Tieren, teils aus Kulturen verschiedenen Entwickelungsgrades herrührte. Die Eingangspforte für die Infektion war entweder der Schwanz, die Gelenkhöhle einer Extremität, das Peritoneum, der Verdauungskanal oder das subkutane Gewebe.

Wir wollen hier eine kurze Beschreibung einiger Fälle geben und dabei diejenigen übergehen, welche sowohl hinsichtlich des Modus, als auch des Ausganges der Infektion eine Wiederholung der schon beschriebenen Fälle darstellen.

Weiße Ratten.

No. 1. Intraperitoneal geimpft am 16. Mai mit einer Emulsion der Leistendrüsen einer schwarzen Ratte (spontane Infektion). Das Tier wird täglich magerer, ohne jedoch äußerlich sichtbare Veränderungen zu zeigen. Am 13. Juni stirbt es, d. h. nach 24 Tagen. Bei der Autopsie sieht man zahlreiche weißliche, punktförmige, mit anderen größeren gemischte Knötchen, bis zur Größe einer kleinen Erbse; sie liegen auf dem Peritoneum, dem Omentum, der Leber, Milz, auf dem Zwerchfelle und den Geschlechtsorganen. Diese letzteren zeigen sich vollkommen käsig verändert. Bei der direkten mikroskopischen Beobachtung erkennt man zahlreiche Torula-Formen und bei der Verimpfung des Materiales aus verschiedenen Organen auf verschiedene Nährböden entwickelt sich unser Mikroorganismus.

No. 2. Subkutan geimpft am 25. Mai mit einer Emulsion von Eiter, der aus einem Gelenkgeschwüre eines Fußes einer schwarzen spontan infizierten Ratte herrührte. Das Tier begann vom folgenden Tage ab eine gewisse Induration in der Umgebung der Impfstelle, d. h. nahe am Ansatze des rechten Hinterfußes, zu zeigen. Allmählich dehnte sich diese Induration immer mehr aus, bis die betreffende Extremität nach Verlauf von ungefähr 10 Tagen ein beträchtliches Oedem an dem Fußgelenke und den Anfang einer mit einem eitrigen Belage bedeckten Ulceration aufwies. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Belages entdeckte man eine große Menge von Torula-Formen, die mit verschiedenen Kokken und kleinen Bacillen vermischt waren.

Das Tier starb am 1. Juli, also nach 35 Tagen, und es zeigten sich folgende Veränderungen:

Körper im allgemeinen sehr abgemagert; rechter Hinterfuß durch die Ulcerationen verstümmelt; andere kleine Ulcerationen am Schwanze, der etwas angeschwollen ist. Bei der Sektion des Tieres sieht man zahlreiche Knötchen an der Leber und der Milz, 3 kleine an der rechten Niere, verschiedene über das parietale und Zwerchfellperitoneum verstreut und viele an den Genitalien. Viele inguinale und dorsosacrale Lymphdrüsen sind käsig verändert. Lunge und Herz anscheinend normal. Bei der mikroskopischen Untersuchung sieht man zahlreiche

Torula-Formen in den verschiedenen Knötchen, den Lymphdrüsen und an der ulcerierten Extremität, wo sich auch wie in dem Schwanze zahlreiche Mikroorganismen meistens in Form von Kokken und Bacillen finden.

No. 3. Am 13. Juni Impfung in das Gelenk eines Fußes mit wenigen Tropfen einer Emulsion von schwarzen von der Oberfläche einer 1 Monat alten Agarkultur stammenden Sporen in 2-proz. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von Milchsäure. Schon nach 2 Tagen zeigt sich das Gelenk stark ödematös und man bemerkt eine Lymphdrüsenschwellung an der entsprechenden Seite. Nach 8 Tagen sind schon in allen Körperteilen die Lymphdrüsen fühlbar nnd es zeigt sich eine Conjunctivitis und eine Rhinitis mit Entleerung einer serös-eitrigen Masse aus den Augen; außerdem treten an den Nasenlöchern eine Menge kleiner Krusten auf. Bei der direkten mikroskopischen Untersuchung zeigen diese Massen Torula-Formen. Das Tier stirbt am 14. September, also nach 68 Tagen, und es lassen sich folgende Veränderungen feststellen:

Sehr abgemagerter Körper; auf ihm eine große Anzahl von Flöhen und Anzeichen von Krätze an der Ohrgegend. Am hinteren Teile des Körpers fehlen an der linken Bauchgegend die Haare und an dem oberen Drittel der Tibia besteht eine große Ulceration, die teilweise mit einer fibrinösen Masse bedeckt ist und teilweise die darunter liegenden Muskeln mit den Sehnen und die Knochen erkennen läßt. Die Ränder der Ulcera sind ausgezackt. An der rechten hinteren Extremität sieht man in der Tarsalgegend eine diffuse Verdickung; auf der Plantar- und Dorsalseite befinden sich ein größeres Ulcus und zwei kleinere. Bei der Eröffnung der Bauchhöhle sieht man eine große Anzahl von Knötchen auf der Oberfläche der Leber, der Milz, auf dem Omentum, dem Mesenterium und den Geschlechtsorganen. An den Thoraxorganen bemerkt man mit bloßem Auge nichts Besonderes. Bei der direkten mikroskopischen Untersuchung und bei Kulturen mit dem pathologischen Material kann man den Mikroorganismus nachweisen. Eine andere weiße Ratte, die man intraperitoneal mit einer Emulsion desselben Kulturmateriales in Bouillon ohne Zusatz von Milchsäure geimpft hat, zeigt weniger heftige Symptome; die Infektion hat einen etwas langsameren Verlauf genommen, so daß das Tier erst 15 Tage später als das erste gestorben ist. Die inneren anatomischen Veränderungen waren übrigens sehr ähnlich.

No. 3. Intraperitoneal geimpft mit einer Emulsion aus Drüsen einer schwarzen Ratte, die infolge einer Infektion vom Verdauungskanal aus gestorben war. Das Tier starb nach 24 Tagen, ohne äußere Veränderungen zu zeigen. Bei der Autopsie sah man eine allgemeine mykotische Knotenbildung auf dem Peritoneum, dem Omentum, der Leber, der Milz, dem Zwerchfell und den Geschlechtsorganen; an letzteren waren die Knötchen käsig verändert.

No. 5. Eine kleine weiße Maus wurde intraperitoneal mit 2 Tropfen einer Emulsion aus schwarzen Sporen geimpft, welche von der Oberfläche einer 35 Tage alten Traubenzuckeragarkultur herrührten. Das Tier starb nach 17 Tagen und zeigte bei der Autopsie eine mykotische Knötchenbildung an allen Bauchorganen und eine Drüsenschwellung an allen Körperteilen.

No. 6. Tier mit einer Banane ernährt, die mit einer 10 Tage alten Traubenzuckerbouillonkultur getränkt war. Das Tier starb nach 95 Tagen.

Bei der Autopsie zeigte es sich sehr mager und in gekrümmter Körperhaltung, aber es bestanden weder die charakteristischen Veränderungen an den Extremitäten, noch die Knötchenbildungen an den inneren Organen. Verschiedene Drüsen waren angeschwollen und es ließ sich in ihnen der Mikroorganismus feststellen, der in den Kulturen mit allen seinen Eigenschaften reproduziert wurde.

Schwarze Ratten (Mus decumanus).

No. 1. Am Schwanze und am linken Fuße mit einer Kultur im zweiten Entwickelungsstadium infiziert. Das Tier zeigte vom 2. Tage ab eine kleine Anschwellung an der Impfstelle, die täglich wuchs und sich auf die anderen Füße ausbreitete, die alle nach 14 Tagen das charakteristische Aussehen der Krankheit zeigten. Der Tod trat nach $2^1/_2$ Monaten ein. Bei der Autopsie fand man folgende Veränderungen: Muskulatur rosa gefärbt; Leber und Lungen sehr blaß, wie auch die übrigen Eingeweide, was die Folge einer allgemeinen Anämie zu sein schien. Auf der Leber und zwar besonders an der konkaven Seite bemerkte man ungefähr 50 Knötchen von der Größe einer kleinen Linse. Auch in der Milz waren disseminierte Knötchen vorhanden. Die Milz war vergrößert; sie überschritt die Mittellinie und ihre Länge war der der Bauchhöhle gleich. Auf ihrer konkaven Seite saßen ungefähr 40 Knötchen, andere wieder auf der konvexen Seite; infolge ihrer Transparenz konnte man außer den oberflächlichen Knötchen keine anderen in dem Gewebe sehen. Die Nieren hatten eine besondere Farbe, die nicht rot, sondern olivgrün war; am Hilus der linken Niere bemerkte man ein weißes Knötchen von der Größe einer kleinen Erbse. Die Drüsen ober- und unterhalb der Niere waren rosa gefärbt. In den beiden Pleurahöhlen fand sich seröse Flüssigkeit.

Der geimpfte Fuß zeigte sich ulceriert und nekrotisiert; in den anderen Füßen waren Metastasen vorhanden. Der Schwanz war angeschwollen und ulceriert. An den Thoraxorganen bemerkte man keine mikroskopischen Veränderungen. Das Vorkommen unseres Mikroorganismus konstatierte man sowohl bei direkter Untersuchung als auch mittels Kulturen in den verschiedenen Organen und Säften.

No. 2. Tier am 16. Oktober intraperitoneal mit einer Kultur im ersten Stadium geimpft. Es starb am 27. Februar, d. h. nach ungefähr $4^1/_2$ Monaten. Es waren folgende Veränderungen vorhanden: Alle 4 Füße zeigten die charakteristischen Anschwellungen an den Gelenken. Die Hoden, besonders der rechte, waren geschwollen und ulceriert und mit nekrotischen Fetzen und Eitermassen bedeckt. Man bemerkte auch große Ulcerationen an den Dorsalflächen der Füße, wie auch am Schwanze nach seiner Basis hin, Ulcerationen, die wie mit dem Locheisen ausgeschlagen aussahen und mit nekrotischen Fetzen bedeckt waren.

Die hinteren Extremitäten waren mehr geschwollen und ulceriert. Man sah auch einige Ulcerationen in der Bauchgegend. Der Schwanz zeigte sich verdickt und mit Anschwellungen namentlich gegen seine Wurzel hin versehen. Die Ulcerationen an den Extremitäten befanden sich alle an der Dorsalseite; diejenigen am Schwanze saßen seitlich, wo auch die größeren Verdickungen waren. Bei der Autopsie sah man im allgemeinen keine Flüssigkeit in den Körperhöhlen. Im Herzen war wenig flüssiges Blut. Lungen und Herz sahen normal aus; die Leber war blaß und mit zahlreichen weißlichen, kaum sichtbaren Punkten bedeckt. Die Milz war vergrößert und hyperämisch und hatte auf ihrer

Oberfläche Pünktchen, die etwas deutlicher als bei der Leber waren. Nieren anscheinend normal. Am Peritoneum und am Mesenterium keine Besonderheiten. Die inneren bemerkenswerteren Veränderungen waren an den Hoden lokalisiert, die sich geschwollen und käsig verändert zeigten. Es fanden sich zahlreiche Drüsenschwellungen an den verschiedenen Körperteilen, namentlich um die Bronchien herum. Die Wirbelsäule war etwas gekrümmt.

Mittels mikroskopischer Untersuchung und Kulturen stellte man in den verschiedenen Organsäften und im Herzblute unseren Mikroorganismus fest, nicht dagegen im Urin.

No. 3. Tier vom Verdauungskanal aus mittels eines Zwiebackes infiziert, welcher mit einer die verschiedenen Entwickelungsstadien enthaltenden Bouillonkultur des Mikroorganismus getränkt war. Es starb nach ungefähr 6 Monaten. Bei der Autopsie zeigte sich das Tier sehr mager und in gekrümmter Körperhaltung. Es fanden sich kleine, wie mit dem Locheisen ausgeschlagen aussehende Ulcerationen am Schwanze und am Rückgrate, dagegen nichts Charakteristisches an den Füßen. Bei der Eröffnung der Bauchhöhle bemerkte man keine Veränderungen an den verschiedenen Eingeweiden, ausgenommen an den Nebennieren, die sich ebenso wie die Leisten und Mesenterialdrüsen als vollkommen verkäst erwiesen. Bei der mikroskopischen Untersuchung der käsigen Masse konstatierte man eine große Menge von Torula-Formen, die sich in verschiedenen Kulturen als von unserem Mikroorganismus herrührend erwiesen. Mit einer geringen Menge desselben Materiales impfte man eine weiße Ratte intraperitoneal, die nach 27 Tagen unter den charakteristischen Veränderungen starb.

Bei einer Hausratte (Mus rattus), welche mittels Skarifikationen an einem Fuße und intraperitoneal mit schwarzen Sporen von einer 8 Monate alten Kultur infiziert worden war, erhielt man dieselben Resultate, wie bei dem in derselben Weise behandelten Mus decumanus.

Die Hausmaus (Mus musculus), die intraperitoneal mit schwarzen, von einer $1^1/_2$ Monate alten Kultur herrührenden Sporen geimpft worden war, starb nach 14 Tagen, ohne Veränderungen aufzuweisen, die man auf den infizierten Mikroorganismus beziehen konnte.

Meerschweinchen.

No. 1. Zu gleicher Zeit wie der weißen Ratte No. 3 wird ihm eine schwarze Sporen enthaltende Kultur subkutan injiziert. Das Tier zeigte niemals irgendwelche Veränderungen.

No. 2. Injektion einer Emulsion von Knötchen, die von einer weißen künstlich infizierten Ratte herrühren. Tod nach mehr als 1 Jahre. Bei der Autopsie zeigten sich an den verschiedenen Körperteilen zahlreiche angeschwollene Drüsen, von denen einige verkäst waren. In denselben konstatierte man bei der direkten Untersuchung keine anderen Mikroorganismen als Torula-Formen, bei deren Kultur sich unser Mikroorganismus entwickelte.

Die Hunde und die Kaninchen, von denen man je einem Exemplar den Eiter einer spontan infizierten Ratte in ein Fußgelenk, dem anderen Kulturen mit schwarzen Sporen in die Bauchhöhle injizierte, zeigten keine Veränderungen.

Der Hase, der mit schwarzen Sporen intraperitoneal geimpft worden war, wies ebenfalls keine Veränderungen auf.

Von den Beutelratten wurde die eine mit schwarzen Sporen intraperitoneal geimpft, die drei anderen an einem Fußgelenke und am Schwanze und zwar je mit einer Sporen enthaltenden Kultur, mit einer Emulsion von Knötchen und mit Eiter, der von einem spontan infizierten Tiere herrührte.

Das mit Eiter geimpfte Tier, das nach einigen Monaten an einer anderen Krankheit starb, zeigte bei der Autopsie an dem Gelenke, in welches die Injektion gemacht worden war, einen Eiterherd, dessen Eiter unseren Mikroorganismus in großer Menge enthielt; derselbe war sehr virulent, wie man bei der Reinfektion einer Ratte feststellen konnte.

Von 2 Katzen, die an den Füßen und am Schwanze geimpft worden waren, und zwar die eine mit Eiter, die andere mit Kultur, entwischte die erste, so daß wir über sie nichts erfahren konnten, die andere bot keine Anzeichen einer Infektion.

Die Taube, welcher man schwarze Sporen in die Luftröhre eingeblasen, und der Stelzenläufer, dem man dieselben subkutan injiziert hatte, zeigten beide keine Veränderungen.

Die Eule, die mit einem an mykotischen Knötchen sehr reichen Material ernährt worden war, blieb mehrere Monate lang in unserer Beobachtung und zeigte keine deutlichen Veränderungen. Ihr Schicksal ließ sich aber nicht verfolgen, da sie ebenfalls entwischte.

Die Kröte wurde mit einer Emulsion von schwarzen Sporen intraperitoneal geimpft und ließ allmählich eine Art von allgemeiner Atrophie erkennen. Nach ungefähr einem Monat zeigte sich am ganzen Körper eine rote Pigmentierung. Das Tier wurde nach 3 Monaten mittels Chloroform getötet. Bei der Autopsie fanden sich zwar keine makroskopischen Veränderungen, aber mittels mikroskopischer Untersuchung und Kulturen konnte man den Mikroorganismus in großer Menge in den Säften der verschiedenen Organe nachweisen.

Die Eidechse wurde intraperitoneal mit einem Tropfen schwarze Sporen enthaltender Bouillon geimpft und im Brutofen bei 28° gehalten. Das Tier starb nach einem Monate. Außer einer allgemeinen Kachexie fand sich nichts Besonderes; unser Mikroorganismus ließ sich jedoch sowohl mittels direkter mikroskopischer Untersuchung als auch mittels Kultur in den verschiedenen Säften nachweisen.

Was die Histologie der pathologischen Veränderungen anbetrifft, so haben die beim Menschen hauptsächlich an den Granulationen der ulcerierten Oberflächen angestellten Untersuchungen nichts Charakteristisches ergeben. Bei den sowohl spontan als experimentell infizierten Muriden zeigen sich die Knötchen der verschiedenen Organe aus einem Bindegewebe bestehend; in denselben kann man eine äußere Zone unterscheiden, in der man fast nur eine dichte Schicht von konzentrischen Bindegewebsfibrillen erkennen kann, ferner eine mittlere Zone, in der dieselben lockerer werden und das Aussehen eines Netzwerkes haben, dessen Maschen mit den Torula-Formen unseres Mikroorganismus angefüllt sind, drittens kann man eine zentrale Zone abgrenzen, in der das Netzwerk so dünn wird, daß es kaum sichtbar ist; hier sieht man eine Anhäufung von parasitischen Elementen, vermischt mit Bruchstücken von Kernen und Zellen und mit einigen Leukocyten.

Mit Hilfe von Färbungsmethoden, von denen wir einige, wie die von Weigert, van Gieson, Sanfelice, Curtis und vieler Anderen geprüft haben, ist es uns immer leicht gelungen, die Färbbarkeit der jungen Formen nachzuweisen. Dieselben sind meist oval oder mehr

oder weniger länglich und ihr Chromatin besitzt eine große Affinität zu den Anilinfarben; die älteren Formen dagegen, welche rundlich oder infolge des gegenseitigen Druckes unregelmäßig sind, besitzen eine dichte und verkalkte Membran, die das Eindringen der Farbstoffe hindert; auch bei diesen Formen kann man übrigens einen gewissen Grad von Färbung nach vorheriger Behandlung mit Pikrinsäurelösung erreichen.

S. Paulo (Brasilien), Juli 1907.

Beobachtungen über die Möglichkeit einer Tuberkuloseinfektion durch den Darmkanal bei infizierten Ställen entstammenden Kälbern.

[Aus dem Bakt. Laboratorium des Gesundheitsamtes der Stadt Mailand.]

Von

Dr. **A. Ceradini** und Prof. **A. Fiorentini,**

Assistenten d. Bakt. Laborat. am Städt. Gesundheitsamt.

Bis vor wenigen Jahren waren beinahe alle Gelehrten der Ansicht, daß der Atmungsapparat am ehesten und in den meisten Fällen den Zutritt der Tuberkuloseinfektion zum Organismus gestatte, und daß die in dem eingeatmeten atmosphärischen Staub enthaltenen Tuberkelbacillen die vorherrschende Ursache der Infektion seien.

Erst Behring griff diese Anschauung in einer auf dem Kasseler Kongreß (26. Sept. 1903) gehaltenen Rede an, und stellte ihr eine neue Theorie über die Verbreitung der Tuberkuloseinfektion gegenüber, nach der das für den Eintritt der Infektion am meisten in Frage kommende Organ der Verdauungsapparat wäre.

Nach Ansicht Behrings käme die Infektion durch den Verdauungsapparat während der ersten Monate des extrauterinen Lebens, oder genauer, in der Säuglingsperiode zu stande; sie wäre somit insofern dem Darmkanal entsprungen, als in dieser Periode die Schutzvorrichtung der Darmschleimhaut noch nicht vollauf zu stande gekommen ist, und hätte zu Trägern die Menschen- oder Kuhmilch.

Behring versucht dann zu erklären, wie der Prozentsatz der Tuberkulosefälle mit dem steigenden Alter zunimmt und sein Maximum im Jugendalter erreicht, indem er darauf hinweist, daß im allgemeinen da, wo die Ansteckung infolge Einatmung bacillenreicher Staubmassen entstanden zu sein scheint, man annehmen muß, daß in Wirklichkeit schon früher eine latente Tuberkulose vorhanden gewesen ist, die sich dann unter dem Einfluß neu eingetretener günstiger Bedingungen in eine typische Tuberkulose verwandelt hat.

Dieser Bericht Behrings rief zahlreiche Arbeiten hervor, deren einige sich auf die Seite Behrings schlagen (Ravenel, Calmette und Guérin, Weichselbaum und Bartel, Vallée, Calmette-Guérin und Déléard etc.), während Andere gegen seine Theorie Stellung nehmen (Spengler, Cornet, Symes-Fischer und Hunter, Baginsky etc.).

Bei den meisten von den verschiedenen Forschern, Anhängern oder Gegnern der Behringschen Theorie, vorgenommenen Untersuchungen wurde den Versuchstieren künstlich tuberkulöses Material verschiedener

Herkunft (Mensch, Rind und Vogel) inokuliert. Wir dagegen haben unsere Versuche an notorisch von Tuberkulose infizierten Lokalen entstammenden Rindern vorgenommen und dabei besonders im Auge behalten, was bei diesen Tieren unter gewöhnlichen Lebensverhältnissen bezüglich des Zutritts der Tuberkelbacillen zum Organismus vor sich geht. Das geeignete Versuchsmaterial war uns infolge der besonderen Umstände, unter denen die Zucht der Schlachtrinder der Lombardei stattfindet, leicht zugänglich.

In der lombardischen Ebene sind die Milchrinderställe äußerst zahlreich und überdies von großer Bedeutung für die Erzeugung besonderer Milchprodukte und die ganz bedeutende Quantität Milch, die von dort täglich zur Versorgung Mailands und der kleineren Zentren abgeht.

In diesen Ställen, in denen die Tiere beständig verbleiben, herrscht die Tuberkulose in Besorgnis erregender Weise und erfaßt 30, 50 und selbst 60 Proz. der eingestellten Tiere.

Auch in den in der trockenen und weniger bevölkerten Zone des Mailänder Hochlands bestehenden Ställen ist die Tuberkulose der Rinder durchaus keine Seltenheit und kann von Sanitätsbeamten, die dort ihr Amt ausüben, oft klinisch bei der Autopsie, oder bei Inspektion des geschlachteten Tieres festgestellt werden.

Es müssen diese Tatsachen insofern hervorgehoben werden, als bei uns gerade wegen der außergewöhnlich großen Milchgewinnung die Zucht der Milchrinder in ganz besonderer Weise gehandhabt wird. In den großen Ställen des lombardischen Tieflandes stößt man mit wenigen Ausnahmen auf keine Rinderzucht, da die Pächter größeren Gewinn darin finden, ihre Milch, wie oben erwähnt, zu verwenden. Es beschränkt sich demnach in diesen Ställen die zootechnische Spekulation auf die Erzeugung von Kälbern zwecks Erhaltens größerer Quantitäten Milch. Das Kalb ist somit für die Pächter ein sekundäres Produkt und wird als solches sobald wie möglich aus dem Stalle entfernt. Dadurch tritt ein Sachverhalt ein, der demjenigen, der unsere Gegend nicht kennt, sonderbar erscheinen muß. Es werden nämlich die in den großen Ställen des lombardischen Tieflandes geborenen Kälber nur 3—8 Tage lang dort gehalten, gerade so lange, als dies für die erste Milchernährung und zum weiteren Fortkommen nötig ist, worauf sie sofort auf den Mailänder Markt geführt und da von den Züchtern angekauft, in das Hochland der Provinz Mailand übergeführt und dort auf die verschiedenen Ställe verteilt und bis zum Alter von 1—2 Monaten weiter mit Milch ernährt werden. Haben sie dann dieses Alter erreicht, so werden sie nach Mailand zurückgeführt, und da auf dem Markte an die Schlächter verkauft. Diese Kälber liefern ein äußerst zartes Fleisch erster Qualität, und sind im Handel unter dem Namen „Lombardische Kälber“ bekannt. Gerade diese Kälber aber wurden in besonderer Weise zu unseren Nachforschungen herangezogen, die dartun sollten:

1) ob in den 1—2 Monate alten, mit Milch ernährten und in notorisch von Tuberkulose infizierten Ställen gehaltenen Kälbern die Tuberkuloseinfektion mehr oder weniger häufig ist;

2) ob bei solchen Kälbern infolge der Infektion mehr oder weniger sichtbare lokale Darmverletzungen entstehen.

Bevor wir aber näher auf unsere Nachforschungen eingehen, halten wir es für angebracht, zuerst das vorzuführen, was wir über die mehr oder weniger starke Frequenz der Tuberkulose bei den Kälbern im allgemeinen wissen. Ohne also weiter die im allgemeinen hierin überein-

stimmenden Statistiken der großen Schlachthäuser Italiens und des Auslandes hier einzeln anzugeben, wollen wir dessen Erwähnung tun, was uns der Bericht des Herrn Prof. Bordoni-Uffreduzzi vom Städt. Gesundheitsamt in Mailand über die Jahre 1901—1906 in dieser Hinsicht über die geschlachteten Kälber lehrt:

Darnach wurden 1902 im ganzen 62850 Kälber geschlachtet, von denen keines Tuberkulose der Eingeweide oder Höhlen aufwies, die eine Sterilisation des Fleisches nötig gemacht hätte.

Im Jahre 1903 wurden unter 66872 geschlachteten Kälbern 6 tuberkulöse vorgefunden und deren Fleisch demgemäß der Sterilisation ausgesetzt.

Im Jahre 1904 fanden sich unter 62806 geschlachteten Kälbern 4 tuberkulöse vor, im Jahre 1905 unter 67399 Kälbern 3 und im Jahre 1906 unter 78932 Kälbern 10 tuberkulöse vor.

Diese Zahlen besagen in klarer Weise, daß das Vorhandensein der Tuberkulose mit sichtbaren Verletzungen bei den Kälbern nur sehr selten beobachtet wird.

Nun behaupten aber zahlreiche Autoren, daß die Tuberkuloseinfektion durch den Darmkanal in den Organismus eindringen könne, ohne daß makroskopisch wahrnehmbare Verletzungen in der Darmschleimhaut auftreten. In den Gekröseganglien, sagen diese Forscher, wird zuweilen nur eine leichte Drüsenerkrankung ohne kennzeichnende Verletzungen wahrgenommen, im allgemeinen wird auch diese nicht beobachtet, und doch vermögen sie durch Inneste die Tuberkulose auf die Versuchstiere zu übertragen. Auf diese Weise gelangen besagte Autoren dazu, die von Behring zur Unterstützung seiner Theorie angenommene latente Tuberkulose zu bestätigen.

Nähmen wir also diese Bestätigungen als wirklich der Wahrheit entsprechend hin, so müßten die von uns gegebenen Daten vom Wahren weit entfernt stehen, und es wäre damit gleichzeitig die Vermutung gerechtfertigt, daß aus den Schlachthäusern ans Publikum jährlich eine große Anzahl Rinder abgeht, die anscheinend gesund, in Wirklichkeit aber, wenn auch nur von latenter, Tuberkulose befallen sind.

Aus unseren Untersuchungen geht aber, wie wir sehen werden, nichts hervor, was diese Vermutung irgendwie bestätigen könnte.

Im Mailänder Schlachthaus haben wir die Gekröseganglien von 112 anscheinend gesunden, 1—2 Monate alten Milchkälbern und besonders lombardischen Kälbern aufgenommen. Wir wuschen dieselben dann unter einem starken Strahl Trinkwassers tüchtig aus, befreiten sie von dem sie umgebenden Fett und wuschen sie neuerdings in sterilisiertem Wasser aus. Nachdem sie dann an verschiedenen Stellen zwecks Feststellung makroskopischer Verletzungen angeschnitten worden waren, wurden sie in einem sterilisierten Mörser zu Brei verwandelt, dieser Brei dann mit sterilem Wasser in eine Emulsion verwandelt und diese in Dosen von 2 ccm einigen Meerschweinchen subkutan inokuliert.

Bei einigen von 12 Kälbern herrührenden Gekröseganglien beobachteten wir eine Art Turgeszenz und fanden da beim Anschnitt, besonders gegen das Ileum zu, einige leicht hämorrhagische Zonen. Die Tiere, von denen sie herrührten, hatten keinerlei bemerkenswerte Verletzungen im Darme, noch in den Lungen gezeigt.

Die mit der Emulsion der Ganglien dieser Kälber inokulierten Meerschweinchen starben innerhalb 2—3 Tagen mit den charakteristischen Verletzungen der hämorrhagischen Septikämie. Der mikroskopische Befund der angeschwollenen Ganglien und des in den Eingeweidehöhlen der

inokulierten Meerschweinchen vorgefundenen Exsudates, sowie die mit besagtem Exsudat und dem Herzblute der verendeten Meerschweinchen angelegten Kulturen bewiesen, daß es sich da um die unter dem Namen infektiöse Pneumoenteritis der Kälber bekannte Infektion handelte, deren akute Form Galtier und deren chronische Form mit Lungenlokalisation Fiorentini beschrieben hat.

Die den anderen 100 Milchkälbern entnommenen Gekröseganglien boten bei der Sektion nichts Abnormes, und in keinem Falle hat die von ihnen herrührende, den Meerschweinchen injizierte Emulsion Tuberkulose erzeugt.

Zur Vervollständigung unserer Nachforschungen haben wir überdies die anscheinend gesunden Gekröseganglien zweier erwachsenen, 8 Monate alten Kälber untersucht, die von einer in den Lungen und den peribronchialen Ganglien lokalisierten Tuberkulose befallen waren, sowie diejenigen von 4 gesunden, 1 Jahr alten Kälbern und 12 erwachsenen Rindern, von denen 6 eine stark verbreitete Tuberkulose der Lungen, der Bronchialganglien und Mediastinalganglien, und die anderen eine beginnende Tuberkulose der Lungen aufwiesen. Es geschah dies hauptsächlich, um festzustellen, ob die Gekröseganglien der erwachsenen, von Tuberkulose der Atmungsorgane befallenen Rinder den Meerschweinchen gegenüber auch dann infizierend wirken, wenn an ihnen keine makroskopischen Verletzungen beobachtet werden konnten.

Die von den zwei 8 Monate alten Kälbern mit tuberkulösen Verletzungen der Lungen und Bronchialganglien herrührenden Gekröseganglien wiesen, makroskopisch betrachtet, keinerlei Veränderung auf. Ihre in Meerschweinchen verimpfte Emulsion führte in beiden Fällen zu Entwickelung der Tuberkulose.

Die Ganglien der vier 1 Jahr alten Kälber ließen keinerlei Verletzung wahrnehmen, die Inokulation ihrer Emulsion erzeugte bei keinem der inokulierten Meerschweinchen Tuberkulose.

Die Gekröseganglien der 6 von schwerer, in den Lungen und den Bronchial- und Mediastinaldrüsen lokalisierter Tuberkulose betroffenen erwachsenen Rinder boten bei der Inspektion keinerlei Veränderung dar, doch lieferte die Verimpfung ihrer Emulsion auf Kaninchen ein positives Ergebnis.

Die Ganglien der 6 erwachsenen und von beginnender Tuberkulose der Lungen befallenen Rinder wiesen ebenfalls keinerlei Veränderung auf; die Inokulation ihrer Emulsion in Meerschweinchen führte zu negativem Ergebnis.

Auf Grund der von uns erhaltenen Ergebnisse kommen wir also zu nachfolgenden Schlüssen:

1) Die Tuberkuloseinfektion bei Milchkälbern ist eine wahre Ausnahmeerscheinung.

2) Die Infektion tritt bei erwachsenen Rindern auf und wird da durch das fortwährende Stallleben der Tiere in stark infizierten Ställen und durch die starke Milcherzeugung, der die jungen Kühe unterworfen sind, bedeutend erleichtert.

3) Die Gekröseganglien der erwachsenen Rinder können Tuberkelbacillen enthalten und infizierend wirken, ohne sichtbare Verletzungen aufzuweisen.

4) Das in den Tieren bestehende Mikrobenfilter, alias Gekröseganglien, ist perfekt, denn außer den Tuberkelbacillen werden von ihm auch andere Mikroorganismen zurückgehalten, wie z. B. die der infektiösen Pneumoenteritis der Kälber.

5) Die latente, von Behring vorgebrachte Tuberkelinfektion, die durch den Darmkanal während der ersten Monate der Stillung stattfinden müßte, läßt sich bei den Milchkälbern nicht feststellen.

6) Das Vorhandensein des Tuberkelbacillus in den anscheinend gesunden Gekröseganglien der mit tuberkulösen, im Atmungsapparat lokalisierten Verletzungen behafteten Rinder spricht nicht immer für Eintritt der Infektion durch den Darmkanal, da die Rinder den infizierenden Schleim nicht ausbrechen, sondern verschlucken und er so durch die Hustenstöße, durch die Bronchien und die Luftröhre in den Rachenraum gelangt und auf diese Weise also eine sekundäre Infektion durch den Darmkanal zustande kommt.

Der größeren Klarheit halber fassen wir den von uns erzielten Erfolg nachstehend zusammen:

Anzahl der Tiere	Alter	Sektionsbefund	Befund der Gekröseganglien	Erfolg der Inokulation der Emulsion der Gekröseganglien in die Meerschweinchen
12	1—2 Monate alte Milchkälber	gesund	gesund, mit Ausnahme einiger angeschwollener mit hämorrhagischen Zonen	verendet an hämorrhagischer Septikämie (infektiöser Pneumoenteritis der Kälber
100	1—2 Monate alte Milchkälber	gesund	gesund	negativ
2	erwachsene, 8 Monate alte Kälber	in den Lungen und den Bronchialganglien lokalisierte Tuberkulose	gesund	Entwickelung von Tuberkulose
4	erwachsene, 1 Jahr alte Kälber	gesund	gesund	negativ
6	erwachsene Rinder	ausgedehnte Tuberkulose der Lungen und der Bronchial- und Mediastinalganglien	gesund	Entwickelung von Tuberkulose
6	erwachsene Rinder	beginnende Tuberkulose der Lungen und anliegenden Ganglien	gesund	negativ

Kurz nach Beendigung unserer Nachforschungen gelangten wir in den Besitz von Berichten über den Tuberkulosekongreß in Wien und den Internationalen Kongreß für Hygiene in Berlin, aus denen hervorgeht, daß die Aetiologie der Tuberkulose viel umstritten war, die Anschauungen Behrings stark an Boden verloren haben und man zu der Schlußfolgerung gelangt ist, daß der Tuberkelbacillus sich sowohl durch den Atmungsapparat wie auch durch den Darmkanal Zutritt zum Organismus zu verschaffen vermag, dem Eintritte durch den Verdauungsapparat jedoch in Vergleich mit dem Eintritt durch das Atmungssystem nur eine ganz sekundäre Bedeutung zukommt.

Mit Vergnügen können wir somit feststellen, daß die vorerwähnte Schlußfolgerung in vollem Einklang steht mit dem Ergebnis unserer Nachforschungen.

Mailand, 30. Sept. 1907.



Studien über Hetero- und Isantagonismus, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse bei infektiösen Erkrankungen der Harnwege.

[Arbeit aus dem „Statens Seruminstitut“ in Kopenhagen. Direktor: Dr. Th. Madsen.]

Von Dr. **R. Faltin** aus Helsingfors.

Mit 1 Abbildung.

(Fortsetzung.)

Verarmung des Nährbodens? In 9 verschiedenen Harnen lebte der Staphylococcus 5—11 Tage, durchschnittlich 7 Tage. Dabei stieg die Alkaleszenz meistens auf 20—24, einmal sogar bis über 40, d. h. zur Neutralisation von 10 ccm Harn wurden 20—40 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure verbraucht.

Daß die Verarmung an assimilierbaren Nährstoffen in einem steril gewordenen Staphylokokkenharne jedenfalls nicht die Höhe erreicht hat, daß einzig dadurch das Absterben der Bakterien erklärbar wäre, zeigt folgender Versuch:

Zwei nach ca. 7 Tagen steril gewordene Staphylokokkenharne werden mit großen Bakterienmengen infiziert, der eine Harn mit Staphylokokken, der andere mit Coli-Bacillen. Kein Wachstum. Neutralisation und von neuem Impfung. Kräftiges Wachstum. Nach ca. 30 Tagen ist der Staphylokokkenharn wieder steril. Wieder Neutralisation und Einimpfen von Staphylokokken und jetzt zum dritten Male erneuertes Wachstum.

In Uebereinstimmung hiermit stehen Angaben von Lundström und Burchard, daß in steril gewordenem Staphylokokkenharn nur ein Teil (nach Lundström $^1/_8$) des Harnstoffs verbraucht worden ist.

Aus den mitgeteilten Versuchen scheint mir außerdem mit großer Wahrscheinlichkeit hervorzugehen, daß für das Absterben sowohl der Staphylokokken als der Coli-Bacillen in Staphylokokkenharnen dieselbe Ursache zu Grunde liegt. Jedenfalls genügte dieselbe Manipulation, nämlich die Neutralisation, um den Harn für beide Bakterien wieder als Nährboden brauchbar zu machen.

Bedeutung der Reaktionsveränderung. Die eben angeführten Versuche ebenso wie die früher ausführlich besprochenen Versuchsserien zwingen mich, ein parallel mit der durch die ammoniakalische Harngärung erzeugten Reaktionsveränderung gehendes und durch Neutralisation wenigstens zum größten Teil zerstörbares is- resp. heteroantagonistisches Prinzip anzunehmen.

Am nächsten liegt die Annahme, daß die Anreicherung des Harns an Ammoniak resp. kohlensaurem Ammoniak die Ursache des Absterbens der Bakterien sei. Lundström und Burchard glauben auf Grund ihrer Experimente, daß diese Annahme nicht zutreffend ist. Dagegen meint Sirotinin, daß in vielen Fällen von Bakterienantagonismus kohlensaures Ammon als Ursache der Hemmung anzusehen ist. Meine eigenen Versuche erlauben mir nicht, ein bestimmtes Urteil zu fällen, aber scheinen mir sehr für Sirotinins Auffassung zu sprechen.

Spielen andere als durch Säuren zerstörbare Stoff-

wechselprodukte eine Rolle? Mehrere Versuche zur Lösung dieser Frage führten zu keinem unzweideutig positiven Resultate.

Durch Kochen während 10—30 Minuten konnte die hemmende Wirkung nicht aufgehoben werden.

Nicht gerade für die Bildung anderer Stoffe spricht folgender Versuch: Ausnahmsweise zeigte sich ein Harn mit der ungewöhnlich hohen Acidität von 8,0 (gewöhnlich betrug die Acidität 3—4) als ein sehr schlechter Nährboden für den Coli-Bacillus. Schon nach 5 Tagen war derselbe darin abgestorben. Aehnliche Beobachtungen hat Rostoski veröffentlicht. Wurde dieser Harn mit einem steril gewordenen, ammoniakalischen Staphylokokkenharne neutralisiert und nun mit Coli-Bacillen infiziert, so entstand ein kräftiges Wachstum und der Bacillus lebte noch Monate hindurch.

Alter der Kultur. Zur Ermittelung, ob verschieden alte Staphylokokkenharne eine verschieden kräftige Hemmung auf den eigenen Coccus und den Coli-Bacillus ausüben, wurden 2, 4, 7 und 10 Tage alte Staphylokokkenharne durch Chamberland-Kerzen filtriert und mit den Filtraten die Versuche vorgenommen. Wenn die Filtrate durch Zusatz von Säure zu derselben schwachen Alkaleszenz gebracht wurden, konnte kein Unterschied wahrgenommen werden.

Wurde eine Anzahl Reagenzröhrchen von demselben Filtrate mit derselben Dosis Coli-Bacillen geimpft und dann Salzsäure in steigender Dosis hinzugefügt, war es leicht, festzustellen, daß das Wachstumsoptimum bei schwach saurer Reaktion eintrat.

Dieselben Versuche wurden noch mit einem anderen, aus cystitischem Harne reingezüchteten Staphylococcus mit ganz gleichem Ausgange wiederholt.

Resumé. Die antagonistische Wirkung, welche die untersuchten Staphylokokken in Flaschenversuchen gegen sich selbst und gegen den Coli-Bacillus entfalten, steht im intimsten Zusammenhange mit der durch die ammoniakalische Harnzersetzung erzeugten Reaktionsveränderung. In Blasenversuchen scheint der Staphylococcus keine merkbare is- oder heteroantagonistische Wirkung auszuüben.

Wodurch wirkt der Colibacillus hemmend auf den Staphylococcus ein?

Viel schwieriger gestaltete sich die Beantwortung dieser Frage.

In den Blasenversuchen kam die antagonistische Wirkung des Coli-Bacillus am prägnantesten zum Vorschein. Wie ist dieselbe nun zu erklären?

Verarmung des Nährbodens? Von einem Nährstoffmangel kann in den Blasenversuchen nicht die Rede sein. Daß dieselbe nicht einmal in den Flaschenversuchen irgend eine Rolle gespielt hat, zeigt unter anderem folgender Versuch:

Zwei Harne werden mit Coli-Bacillen geimpft. Erst nach 6 Monaten sind die Bacillen tot. Nun wird ein Staphylococcus eingeimpft, und es erfolgt gutes Wachstum, woraus zu ersehen ist, daß in dem Harn noch Nahrung genug für den Staphylococcus vorhanden war.

Reaktionsveränderung? An eine schädliche Aenderung der Reaktion kann ebenfalls nicht gedacht werden, da der Coli-Bacillus überhaupt nur langsam eine Reaktionsveränderung hervorrief.

Mechanische Momente? Nahe liegend ist die Vermutung, daß es sich hier vielleicht ganz einfach um einen mechanischen Vorgang gehandelt habe.

Wenn in einem Gemisch von zwei Bakterienarten nur die eine innerhalb des Miktionsintervalles Zeit findet, sich zu vermehren, so muß die andere aus der Blase weggespült werden und so ein Vertreiben derselben durch die schneller wachsende Art vorgetäuscht werden.

Daß der Coli-Bacillus eine größere Vermehrungsgeschwindigkeit als der Staphylococcus hat, war durch mehrere Versuche festgestellt worden.

Durch Variation der Blasenkapazität von 60 zu 30 ccm und durch Herabsetzen des Miktionsintervalles von 5 Stunden auf 4, 3, 1½ und ½ Stunde konnte ermittelt werden, daß der Staphylococcus, wenn er sich allein in der Blase befindet, nicht daraus weggeschwemmt wird. Nach den ersten Miktionen sinkt zwar anfangs die Bakterienzahl bedeutend. Aber mit der Zeit geht sie doch wieder in die Höhe. Einige Versuche mit kurzem Miktionsintervall konnten nur 1—2 Tage, andere mit 3-stündigem Miktionsintervall dagegen oft eine Woche lang fortgesetzt werden.

In diesen nahm die Zahl der Staphylokokken zu, während in den Parallelblasen mit Coli und Staphylokokken die letzteren entweder stark in die Minorität gerieten oder vollständig verschwanden.

Es ist also das Verschwinden der Staphylokokken aus den Blasen nicht ein rein mechanischer Vorgang.

Entwickelungshemmende Stoffwechselprodukte. Es bleibt also nichts anderes übrig, als anzunehmen, daß es irgendwelche Stoffwechselprodukte des Coli-Bacillus gibt, welche auf die Staphylokokken einen entwickelungshemmenden Einfluß ausüben können. Mit dieser Annahme gestaltet sich die Erklärung der Blasenversuche verhältnismäßig einfach auf folgende Weise:

Innerhalb des kurzen Miktionsintervalles kann der Staphylococcus den Harn nicht alkalisch machen. Einige Messungen in Blasen mit einer 3-stündigen Miktionszeit zeigten eine von — 4 auf — 2 verminderte Acidität. Der Coli-Bacillus konnte sich also ungehindert vermehren. Infolge des raschen Vermehrens des Coli-Bacillus verschiebt sich das Mengenverhältnis der beiden Bakterien mehr und mehr zu Gunsten des Coli-Bacillus. Schließlich muß ein Zeitpunkt kommen, wo der Coli-Bacillus in einer so großen Zahl vorhanden ist, daß ein Verhältnis erreicht worden ist, das nach den Ergebnissen der Flaschenversuche für den Staphylococcus ungünstig wird, indem er in seiner Entwickelung gehemmt wird. Von nun an kann er innerhalb des Miktionsintervalles nicht mehr seine alte Individuenzahl erreichen und muß allmählich durch die Entleerungen der Blase entfernt werden.

Versuche, die gegen die Staphylokokken wirksamen, entwickelungshemmenden Stoffwechselprodukte des Colibacillus näher zu charakterisieren.

Filtrierbarkeit. Es wurde schon oben erwähnt, daß in einem 2-tägigen Coli-Harnfiltrat die Staphylokokken eine verlangsamte und geringere Alkalibildung als im normalen Harn zeigten und demgemäß länger am Leben blieben. Aehnliche Versuche mit einem 2 und einem 3 Monate alten Coli-Harnfiltrat zeigten eine noch geringere Alkalibildung und ein auf Monate verlängertes Leben. Da dieselben Erscheinungen in den entsprechenden Coli-Harnen vorkamen, scheint mir der Schluß nicht unberechtigt, daß das heteroantagonistisch wirksame Prinzip des Coli-Bacillus durch Chamberland-Kerzen filtrierbar ist.



Adsorbabilität und Verhalten gegenüber Hitze. Es wurde das Wachstum der Staphylokokken im Coli-Harnfiltrat, insoweit es in der Alkalibildung zum Vorschein kam, untersucht und besonders die Beeinflussung desselben durch Hitze und durch Schütteln mit Tierkohle und Staphylokokken berücksichtigt.

Zu dem Zwecke wurde ein 7 Tage alter Coli-Harn filtriert und mit dem Filtrat folgendes vorgenommen:

Ein Teil wurde in 6 Flaschen zu je 50 ccm steril abgemessen. 3 von diesen Flaschen wurden im Wasserbade 1/2 Stunde gekocht.

Ein anderer Teil wurde mit 7 Proz. Tierkohle versetzt, 5 Minuten mittels einer durch einen Elektromotor getriebenen Schüttelmaschine behandelt, dann noch während 2 Stunden mehrmals durchgeschüttelt. Dann Filtration durch Chamberland und Verteilen in 3 Flaschen mit je 50 ccm.

In der Ueberlegung, daß die eventuellen Hemmungsstoffe eine spezielle Affinität zu dem Staphylococcus besitzen könnten, wurde eine Portion des Filtrats 1/2 Stunde in der Schüttelmaschine mit einer Staphylokokkenaufschwemmung geschüttelt, dann Filtration und Verteilen wie oben.

Schließlich wurden zur Kontrolle je 3 Flaschen mit je 50 ccm teils normalen, teils 1/2 Stunde gekochten, teils mit Tierkohle geschüttelten Harnes hergestellt.

Dann wurden die Flaschen mit 3 verschiedenen Dosen einer Staphylokokkenaufschwemmung in der Weise infiziert, daß die zur selben Serie gehörigen Flaschen je mit einer der Dosen geimpft wurden. Selbstredend waren alle angewandten Harne von derselben Herkunft.

Nach 40 Stunden, 3 und 9 Tagen wurde titriert. Die beigefügte Tabelle zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen:

8-tägiges Coli-Harnfiltrat mit 3 Dosen Staphylokokken.

Nach wie langer Zeit?	Medium	3680 Mill.	3 680 000	368 Staphylokokken
Nach 40 Stunden	Filtrat	— 1,8	— 2,8	— 4,4
	F Kohle	+ 7	+ 6	— 3,2
	F + Staph.	—	— 1,2	— 4,0
	F 1/2 Std.	— 1,2	— 1,2	— 2,0
	N 1/2 Std.	— 0,8	+ 5	— 1,2
	N Kohle	+ 10	+ 8	+ 6
	N	+ 8	+ 7	— 1,2
Nach 3 Tagen	Filtrat	+ 6	— 1,2	— 3,7
	F Kohle	+ 8	+ 10	— 1,4
	F + Staph.	—	— 0,2	— 1,4
	F 1/2 Std.	+ 8	— 0,7	— 1,0
	N 1/2 Std.	+ 5	+ 7	— 0,5
	N Kohle	+ 14	+ 14	+ 10
	N	+ 10	+ 13	+ 8,5
Nach 9 Tagen	Filtrat	+ 18	+ 16	+ 12
	F Kohle	+ 18	+ 20	+ 16
	F + Staph.	—	+ 20	+ 12
	F 1/2 Std.	+ 16	+ 15	+ 16
	N 1/2 Std.	+ 16	+ 13	+ 12
	N Kohle	+ 24	+ 26	+ 21
	N	+ 21	+ 20	+ 14

Erläuterungen der Abkürzungen: F + Staph. bedeutet Filtrat mit Staph. geschüttelt. F 1/2 Std. selbstverständlich F 1/2 Std. gekocht. N bedeutet normaler Harn.

Wenn man wieder von einigen Unregelmäßigkeiten und der Schwierigkeit, den Harn zu titrieren, absieht, so kann man nicht umhin, einige Ergebnisse herauszulesen. Erstens geht in Uebereinstimmung mit früheren Versuchen deutlich hervor, daß in dem Filtrat eine bedeutende Verlangsamung der ammoniakalischen Harnzersetzung vorhanden ist.

Die von der Menge der eingesäten Staphylokokken abhängende ammoniakalische Harnzersetzung ist ebenfalls wieder zu konstatieren. Nach 9 Tagen ist der Unterschied zwischen der Alkaleszenz im normalen Harn und im Filtrate unbedeutend.

Durch die Behandlung mit Tierkohle scheint der größte Teil der Hemmung, insoweit derselbe in einer verlangsamten Alkalibildung zum Vorschein kommt, fortzufallen. Dieser Befund würde sehr für die Anwesenheit eines hemmenden, adsorbablen Stoffwechselproduktes des Coli-Bacillus sprechen, wenn nicht zu gleicher Zeit der normale Harn durch dieselbe Manipulation ebenfalls eine kleine, aber nicht zu verkennende Verbesserung als Nährboden erfahren hätte. Wenn auch der Unterschied zwischen dem normalen und normalem, mit Kohle geschüttelten keineswegs so groß ist, wie derjenige zwischen dem mit Kohle behandelten und dem nicht behandelten Filtrate, so bleibt jedenfalls die Möglichkeit bestehen, daß das bessere Wachstum, wenigstens teilweise, auf der Adsorption von schon normaliter im Harn befindlichen Hemmungsstoffen beruhen kann, und es entsteht hierdurch eine gewisse Unsicherheit in der Beurteilung der Ergebnisse.

Hier sei noch erwähnt, daß, wie zahlreiche Versuche später zeigten, die verschiedenen Harne sich sehr verschieden gegenüber der Behandlung mit Kohle verhalten. Es gibt Harne, die durch diese Prozedur fast untauglich als Nährboden werden. Hieraus erhellt, wie äußerst vorsichtig man in der Beurteilung der experimentellen Ergebnisse sein muß, wenn man mit Harn arbeitet.

Nicht weniger schwierig ist es, den Einfluß des Kochens richtig zu schätzen. Durch diese Behandlung wurde nämlich der normale Harn unzweideutig als Nährmedium verschlechtert. Zwischen dem gekochten und dem nicht gekochten Filtrate bestand möglicherweise ein ganz unbedeutender Unterschied zu Gunsten des gekochten. Würde man nun wagen, beide Verschiebungen einander zu addieren, so käme eine kleine Verminderung der hemmenden Wirkung des Filtrats durch $^1/_2$-stündiges Kochen zustande. Spätere Versuche zeigten nun, daß die verschiedenen Harne sich auch gegen Kochen bezw. Erwärmen entgegengesetzt verhalten konnten. Die meisten wurden schlechtere Nährböden nach dem Erhitzen, aber andere zeigten im Gegenteil eine auffallende Verbesserung. Die Verschlechterung schien im allgemeinen mit der Bildung eines Bodensatzes Hand in Hand zu gehen.

Was schließlich das Schütteln mit Staphylokokken betrifft, so scheint es ohne Einfluß auf den Hemmungsgrad des Filtrates gewesen zu sein.

Resumé. Als Resultat der mitgeteilten Versuchsreihe ergibt sich also, daß der Coli-Bacillus mit aller Wahrscheinlichkeit im Harn Stoffwechselprodukte bildet, welche auf den Staphylococcus wachstumhemmend einwirken, durch Chamberland-Kerzen filtrierbar, durch Tierkohle adsorbabel sind und deren Wirksamkeit vielleicht durch Kochen vermindert wird.

Versuche mit Coliharnfiltraten und verschiedenen Staphylokokken und Colistämmen.

Bis auf weiteres die Frage nach der Natur dieser hypothetischen Hemmungsstoffe beiseite lassend, wollte ich untersuchen, ob sie auch gegen andere Staphylokokkenarten, gegen andere Coli-Arten, überhaupt gegen andere Bakterienarten und schließlich gegen die eigene Art wirksam wären. Nach einem gleich zu beschreibenden Verfahren wurden nun ausführliche Versuche angestellt.

Versuchstechnik. Um den Grad der Hemmung, d. h. der Verzögerung des Wachstums in einfacher Weise mit Umgehung aller zeitraubenden, quantitativen bakteriologischen Untersuchungen zu bestimmen, verfuhr ich folgendermaßen: Von der Tatsache ausgehend, daß es für eine kleine Bakterienquantität länger dauert als für eine größere, um demselben Harnquantum eine bestimmte makroskopische, chemische oder sonstige Beschaffenheit beizubringen, infizierte ich eine Reihe Reagenzgläschen, gewöhnlich 8—10, mit ebensovielen verschiedenen Bakteriendosen. Diese wurden alle aus 1-tägigen Agarkulturen nach dem üblichen Verdünnungsverfahren mit 5 ccm Pipetten und Kolben mit 45 ccm Salzwasser als Multipla von 10 hergestellt. Die erste Dosis war meistenteils so groß, daß die damit infizierte Röhre sofort getrübt wurde. Jedes Reagenzgläschen enthielt 5 ccm des zu untersuchenden Harns.

Wenn man normalen Harn in dieser Weise z. B. mit Bacterium coli infiziert, kann man gewöhnlich noch innerhalb der 12 ersten Stunden, mitunter sogar länger, einen deutlichen Unterschied zwischen der Trübung der verschiedenen Röhren wahrnehmen. Bald verwischt sich aber der Unterschied und alle Gläschen sehen spätestens nach 24—36 Stunden gleich trübe aus. Anders, wenn eine Verlangsamung des Wachstums vorhanden ist. Dann kann es Tage dauern, ehe die letzten Gläschen sich trüben, und noch länger, ehe der Unterschied zwischen der Opaleszenz der Gläser aufgehoben ist. Ja, es kann bei kräftiger Hemmung vorkommen, daß in den Röhren mit den höheren Bakteriendosen eine Klärung durch Zubodensinken der Bakterien stattgefunden hat, während die letzten noch einen Fortschritt in der Trübung aufweisen. Dann muß man den Bodensatz aufschütteln, um den Unterschied wahrnehmen zu können. Zur tabellarischen Aufzeichnung eignen sich deswegen im allgemeinen nur die Resultate der ersten Tage.

Hat man nun mehrere Flüssigkeiten, die bezüglich ihrer Hemmung auf dieselbe Bakterienart miteinander verglichen werden sollen, so infiziert man von jeder Flüssigkeit eine Reihe Reagenzgläser mit den 10 verschiedenen Bakteriendosen. Nach 12, 24 u. s. w. Stunden nimmt man dann ein beliebiges Reagenzröhrchen, am besten jedoch eins, wo die Opaleszenz eben deutlich sichtbar ist, als Standard und vergleicht die Gläser der anderen Reihen. Je nachdem die entsprechende Trübung sich in einem mit einer größeren oder einer kleineren Bakteriendosis beschickten Gläschen vorfindet, ist die Hemmung hier kräftiger resp. geringer.

Dieses Vorgehen ist dem in Statens Seruminstitut bei Untersuchungen über Agglutination und Hämolyse gebräuchlichen kolorimetrischen Verfahren nachgebildet und ist sehr bequem, wenn es gilt, mehrere Flüssigkeiten in Bezug auf ihren Hemmungsgrad miteinander zu vergleichen.

Um die Brauchbarkeit des Verfahrens noch zu kontrollieren, wurden zu 2 Reihen erst 0,6 resp. 0,75 ccm 1-proz. Karbolsäurelösung hinzugefügt und dann die Infektion mit den 10 Bakterienquantitäten vorgenommen. Es wurden die oben geschilderten Erscheinungen der allmählich auftretenden Trübung beobachtet. In der Reihe mit 0,75 ccm Karbolsäurezusatz schritt die Trübung täglich nur um etwa eine Röhre weiter, so daß nach einer Woche erst 6 Röhren getrübt waren. Wurden dagegen, um den Einfluß der Verarmung des Nährbodens zu studieren, 3 Reihen mit 0,5 Harn + 4,5 Kochsalzlösung, 1,0 Harn + 4,0 Kochsalzlösung, 2,5 Harn + 2,5 Kochsalzlösung und schließlich eine vierte mit 5 ccm Harn hergestellt und in derselben Weise infiziert, so entstand die Trübung in allen Reihen zu gleicher Zeit und schritt sehr schnell durch alle Röhren. Dagegen war selbstverständlich der Trübungsgrad, d. h. die gebildete Bakterienmasse, ungefähr proportional mit dem Gehalt an Nährstoff. In den untersuchten Bakterienharnfiltraten war die nach längerer Zeit gebildete Bakterienmasse etwa umgekehrt proportional mit dem Hemmungsgrad, aber nicht immer.

Nicht ganz so deutliche und leicht vergleichbare Resultate lieferte das Verfahren, wenn die Wirkung einer Flüssigkeit auf verschiedene Bakterienarten untersucht werden sollte, denn es war ja fast unmöglich, die Verdünnungen so herzustellen, daß die entsprechenden Kolben der verschiedenen Bakterien die gleiche Anzahl Keime enthielten.

Durch Vergleich mit einer Kontrollreihe Reagenzgläser mit normalem Harn erhielt man immerhin brauchbare Resultate.

Ohne die ausführlichen Versuchsprotokolle beizufügen, begnüge ich mich, hier die Resultate kurz wiederzugeben.

Versuche mit Coliharnfiltraten und vier verschiedenen Staphylokokken. Um die Hemmung gegen verschiedene Staphylokokken festzustellen, wurde ein Filtrat von einem 9-tägigen Coli-Harn benutzt und außer der schon früher untersuchten Art (mit W bezeichnet) noch drei andere (Fr. A und N), aus pathologischen Harnen reingewonnene Staphylokokken verwandt.

Im Filtrat zeigte sich nun eine deutliche Hemmung gegen alle Staphylokokken. Die Kontrollharne zeigten, daß die verschiedenen Arten sehr verschieden gut im normalen Harn wuchsen, am besten gedieh Fr, dann W und N, und A am schlechtesten. Nicht ganz parallel mit diesem Verhalten erwies sich die Hemmung im Filtrat. Am wenigsten wurde der Staphylococcus W, also der zu allen früheren Versuchen benutzte, beeinflußt, dann kamen Fr, N und namentlich A, der sehr stark beeinflußt wurde. Noch nach 3 Tagen war in den mit A besäten Filtratgläsern nur in den zwei ersten ein makroskopisches Wachstum eingetreten, während von den Kontrollgläsern schon 7 Gläser ein deutliches Wachstum aufwiesen. Von den mit A resp. mit N beschickten Filtratröhrchen blieben überhaupt die zwei mit den kleinsten Dosen geimpften steril, während die Kontrollröhrchen Wachstum zeigten. Hier hatte das Filtrat also möglicherweise, wenn keine Versuchsfehler vorliegen, einige Staphylokokken vernichtet. Doch kann man sich diesen Befund auch anders, als auf Bakterizidie beruhend erklären. Bekanntlich geht, wenn Bakterien von einem Nährboden in einen anderen übergeimpft werden, ein Teil der eingeimpften Bakterien zu Grunde. Nur die widerstandsfähigsten erholen sich und können sich vermehren. Bei einer geringen Aussaat von einigen Individuen ist es sehr leicht möglich, daß keine einzige Bakterie die Ueberführung in eine andere Flüssigkeit verträgt.

Versuche mit Coliharnfiltraten und sechs verschiedenen Colistämmen. Zur Prüfung, ob ein Coli-Bacillus sowohl auf andere Rassen als auch auf die arteigene hemmend wirken kann, wurde ein Filtrat von einem 12-tägigen Coli-Harne benutzt. Außer dem eigenen Coli (W) wurden noch fünf andere aus Cystitiden und Bakteriurien reingezüchtete Coli-Rassen (B, L, Mo, Ta, Ty) zum Vergleich herangezogen.

Am kräftigsten wurde die eigene Coli-Art gehemmt, fast ebenso kräftig Ty, dann kamen Ta, Mo, am wenigsten B und L.

Versuche mit Coliharnfiltrat und dem arteigenen Colistamm.

Der Isantagonismus des Colibacillus.

Von besonderem theoretischen Interesse scheinen mir die Untersuchungen über die Ursachen der isantagonistischen Erscheinungen in Coli-Harnfiltraten zu sein, schon aus dem Grunde, weil die Frage des Isantagonismus durch die Arbeiten von Eijkman, Conradi und Kurpjuweit, Passini, Manteuffel und Rolly zur Zeit auf der Tagesordnung steht.

Zusatz von neuem Harn zu dem Filtrate. Mit einem kräftig entwickelungshemmend-wirkenden Filtrat eines 9-tägigen Coli-Harns wurde ein Versuch in der Art, wie die Tabelle zeigt, angestellt.

Nach 18 Stunden	18000 Colibacillen	1800 Coli	124 Coli	
5 F + 5 N	+	—	—	Aeußerst feine Trübung
5 F + 2,5 N + 2,5 NaCl	—	—	—	
5 F + 0,5 N + 4,5 NaCl	—	—	—	
5 F + 5 NaCl	—	—	—	
5 N + 5 NaCl	?	+	+	Sehr kräftige Trübung
5 F	—	—	—	

Erklärung der Abkürzungen: F = Filtrat. N = normaler Harn. NaCl = physioiogische Kochsalzlösung.

Nach 2 Tagen zeigte sich eine feine Trübung in allen Gläsern der ersten Reihe. Noch nach 12 Tagen waren 5 F + 5 NaCl ebenso wie 5 F vollkommen klar. Die Reihe 5 F + 5 N enthielt offenbar mehr Nährstoff als die Reihe 5 NaCl + 5 N, da Kontrollversuche gezeigt hatten, daß in NaCl-Lösung der Coli-Bacillus nicht gedeihen konnte. Nichtsdestoweniger entstand in jener Reihe nur ein recht unbedeutendes und verspätetes Wachstum, während in dieser eine kräftige Trübung schon nach wenigen Stunden eintrat. Dieser Befund ist nur mit der Annahme eines im Filtrat befindlichen, noch im verdünnten Zustande wirksamen, wachstumshemmenden Stoffes vereinbar.

Ein ähnlicher, mit einem etwas weniger wirksamen Filtrate gemachter Versuch bestätigte und erweiterte den im vorigen erhobenen Befund.

Nach 48 Stunden war der Stand der Dinge am meisten charakteristisch, wie die folgende Tabelle zeigt.

Die mit denselben Ziffern bezeichneten Gläser zeigten denselben Trübungsgrad:

Colidosis	4650 Mill. Coli	465 Mill. Coli	46,5 Mill. Coli	4 650 000 Coli	465 000 Coli	46 500 Coli	4650 Coli	465 Coli	39 Coli	3 Coli	
0,5 F + 5 N + 4,5 NaCl	+	+	+	+	—?	+	+	+	+1	—	Recht kräftige Trübung
2,5 F + 5 N + 2,5 NaCl	+	+	+	+	+	—?	+1	0	0	0	Etwas geringere Trübung als oben
5 F + 5 N	+	+	+	+	+	+	+	+2	+	+	Noch geringere Trübung
5 F + 2,5 N + 2,5 NaCl	+	+	+	+	+2	+	+	+	+	0	D:0
5 F + 0,5 N + 4,5 NaCl	+	+	+2	+	+	+	+	+3	0	0	D:0
5 F + 5 NaCl	+	+	+	+	+	+3	+	+	—	—	Feine Trübung
5 N + 5 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+4	Sehr kräftige, undurchsichtige Trübung
5 F + 5 N[1])	+4	+	+	+	+	+	+	+	+	+5	Bedeutend geringerer Trübungsgrad
5 F	+	+	+5	+	+	+	+	+	—	—	Geringere Trübung
5 NaCl	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Keine Trübung

Erläuterungen: 0 bedeutet, daß Gläser mit den betreffenden Dosen nicht geimpft wurden. — bedeutet, daß kein Wachstum zu konstatieren war. + bedeutet, daß Wachstum eintrat.

1) Wie ersichtlich, ist 5 F + 5 N hier zum zweiten Male in die Tabelle eingefügt, um den Vergleich leichter zu gestalten.

Die Tabelle besagt dasselbe wie der vorige Versuch, nämlich, daß trotzdem 5 F + 5 N mehr Nährstoffe enthält als 5 NaCl + 5 N, das Wachstum in der ersten Reihe doch viel schlechter ist als in der zweiten. Je mehr Filtrat zu demselben Quantum Harn hinzugefügt wird, desto schlechter wird das Wachstum, und je mehr Harn zu demselben Quantum Filtrat, ein desto besseres Wachstum erfolgt.

Diese Befunde lassen sich gut mit der Annahme vereinigen, daß sowohl wachstumshemmende Stoffe als eine gewisse Verarmung des Nährbodens das Ausschlaggebende bei der Wachstumsbeschränkung der Bakterien ist.

Einfluß des Alters des Coliharns auf die Hemmungserscheinungen. Bekannt ist die Tatsache, daß die Quantität einiger Stoffwechselprodukte in Bakterienkulturen nach einer gewissen Zeit ihren Höhepunkt erreicht, um dann allmählich abzusinken. Dies gilt z. B. für manche Säuren und Alkalien und ebenso für mehrere Toxine, z. B. für das Diphtherietoxin. Neuerdings haben Krencker für die Bildung bakterizider Stoffe in Bouillonkulturen und Conradi und Kurpjuweit für ihre sogenannten autotoxischen Hemmungsstoffe denselben Befund erhoben.

Ob ähnliche Gesetze auch für die hypothetischen isantagonistischen Hemmungsstoffe im Coli-Harn gelten, war die Aufgabe, welche zunächst angegriffen wurde.

Es wurden 4 Filtrate von 3-, 6-, 9- und 12-tägigen Coli-Harnen, die selbstverständlich ebenso wie der Kontrollharn alle aus demselben Gemisch stammten, nach dem geschilderten Verfahren miteinander verglichen.

Nach 2 Tagen waren 7 Röhren von dem jüngsten Filtrat getrübt, von den übrigen Filtraten nur die erste Röhre. Erst nach 4 Tagen war die Trübung in allen Reihen so weit fortgeschritten, daß ein Vergleich möglich war, wie es die folgende Tabelle dartut.

Alter des Filtrats	3200 Mill. Coli	320 Mill. Coli	32 Mill. Coli	3200000 Coli	320000 Coli	32000 Coli	3200 Coli	320 Coli	32 Coli	3 Colibacillen	
3 Tage	+	+	+	+	+	□	+	+	+	+	→ ⊙ In den mit ⊙ resp. mit □ bezeichneten Röhren ist derselbe Trübungsgrad vorhanden
6 „	+	+	+	+	+	+ ⊙	—	—	—	—	
9 „	+	+	+	⊙	+	—	—	—	—	—	
12 „	+	+	+	+	+	⊙	—	—	—	—	
Kontrollharn	+	+	+	+	+	+	+	+	+	□	→ ⊙ Schon nach < 36 Std. alle Gläser vom selben Aussehen

Nach 14 Tagen war eine unbedeutende Verschiebung eingetreten.

Alter des Filtrats	3200 Mill. Coli	320 Mill. Coli	32 Mill. Coli	3200000 Coli	320000 Coli	32000 Coli	3200 Coli	320 Coli	32 Coli	3 Colibacillen
3 Tage	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊙
6 „	+	+	+	+	+	⊙	—	—	—	—
9 „	+	+	+	+	⊙	—	—	—	—	—
12 „	+	+	+	+	+	⊙	+	—	—	—

Der Versuch wurde noch 2 Wochen, also insgesamt 1 Monat fortgesetzt, ohne daß eine Trübung in den letzten Gläschen sich eingestellt hätte. Kulturversuche hatten übrigens schon am 5. Tage dargetan, daß diese Röhren steril waren. Dagegen glichen sich die Unterschiede zwischen den Röhren derselben Reihe vollständig aus. Ebenso war die Trübung nach Schütteln fast dieselbe in allen Reihen, doch war sie etwas geringer in den älteren Filtraten.

Aus diesem Versuche scheint also hervorzugehen, daß schon ein 3-tägiges Coli-Harnfiltrat eine recht kräftige Hemmung auf den eigenen Coli-Stamm ausübte. Die kräftigste Wirkung entfaltete das Filtrat des 9-tägigen Coli-Harns.

Wie außerordentlich verzögert die Entwickelung der Bakterien in diesem Filtrate war, zeigt ein anderes Versuchsprotokoll:

	3890 Mill. Coli	389 Mill. Coli	38 900 000 Coli	3 890 000 Coli	389 000 Coli	38 900 Coli	3890 Coli	389 Coli	50 Coli	3 Colibacillen
Nach 24 Stunden	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3 Tagen	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 6 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 9 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 14 „	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 34 „	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—

In verschiedenen Versuchen wechselte die Bakterienmenge, welche überhaupt gar nicht zur Entwickelung gelangte, zwischen 389 und 32 000.

Mehrere vergleichende Versuche mit Filtraten von 3-, 7-, 10-, 17-, 24-, 31-, 38-tägigen Coli-Harnen aus einem anderen Gemisch ergaben nicht dasselbe Resultat wie der obige Versuch. Im allgemeinen nahmen die Hemmungserscheinungen mit dem Alter der Kultur zu. Verglich man gleichalte Filtrate aus verschiedenen Coli-Harnen miteinander, so konnten sie eine ganz verschiedene Hemmung entfalten. So konnte z. B. in dem Filtrate eines 5 Wochen alten Coli-Harns ein kräftigeres Wachstum als in demjenigen eines 4-wöchigen, ja, als in demjenigen eines 6-tägigen zustandekommen.

Es wurden noch zwei andere Coli-Stämme (Mo und Ty) in dieser Hinsicht geprüft. Von den Filtraten von 5-, 10- und 15-tägigen Harnkulturen des einen (Mo) Stammes zeigte das 5-tägige die größte, das 10-tägige die geringste Hemmung. In dem 15-tägigen Filtrate war das Wachstum unbedeutend rascher als in den 5-tägigen, aber nach mehreren Tagen war die schließliche Trübung in jenem doch geringer als in diesem.

Die ebenso alten Filtrate von den mit dem anderen (Ty) Coli-Stamme infizierten Harnen zeigten ein mit zunehmendem Alter deutlich verringertes Wachstum.

Infolge dieser, sich zum Teil widersprechenden Versuchsergebnisse muß es als unentschieden gelassen werden, ob die Menge der hypothetischen Hemmungsstoffe nach einer gewissen Zeit ihr Maximum erreicht oder ob die Hemmung parallel mit dem Alter der Kultur wächst. Wahrscheinlich verhalten sich Filtrate aus verschiedenen Coli-Harnen in dieser Beziehung verschieden.



Wirkung der Zufuhr von Säuren und Alkalien. Wie schon früher hervorgehoben, wurde ein Coli-Harn mit der Zeit immer weniger sauer, um schließlich auf Lackmus, aber nicht auf Phenolphtalein, alkalisch zu reagieren. Um nun festzustellen, ob diese Reaktionsveränderung irgendwie in Beziehung zu der Hemmung stand, wurde folgender Versuch mit einem 10-tägigen Coli-Harnfiltrat angestellt:

In 10 Reagenzgläser mit je 5 ccm des Filtrats wurden je 46500 Coli-Bacillen eingesät und dann verschiedene Mengen normaler HCl und NaOH hinzugefügt. Nach 24 Stunden ergibt sich folgendes Resultat:

	0,15 HCl	0,10 HCl	0,05 HCl	+0	0,05 NaOH	0,1 NaOH	0,15 NaOH	0,20 NaOH	0,25 NaOH	0,30 NaOH	0,35 NaOH	
Filtrat. Acidität = 3,8	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	Sehr feine Trübung
Normaler Harn. Acid. = 4,2	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	In den mittleren kräftige Trübung
					Nach 48 Stunden							
Filtrat	—	—	+	⊙	+	Optimum +	+	+	⊙	+	—	In den mit ⊙ bezeichneten derselbe Trübungsgrad
Normaler Harn	—	—	+	□	+	Optimum +	+	+	□	+	—	In den mit □ bezeichneten derselbe Trübungsgrad
					Nach 3 Tagen							
F	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	Die maximale Trübung schwächer als die geringste Trübung in den N-Gläsern
N	—	+	+	+	+	+	+	+	,	+	—	

Bei diesem, nicht besonders kräftig hemmenden Filtrate trat bei Zusatz schon einer geringen Quantität HCl eine zunehmende Hemmung auf. Der Zusatz von NaOH bis zu einer gewissen Dosis verbesserte dagegen das Wachstum. Bei größerem Zusatz konnte kein Wachstum weiter stattfinden. Ganz dieselben Erscheinungen traten aber auch im normalen Harn auf, nur vertrug derselbe, trotzdem er schon im voraus etwas saurer war, etwas mehr HCl. Das Optimum des Wachstums lag aber bei beiden bei Zusatz von 0,1 NaOH.

Aus diesem Ergebnis scheint mir hervorzugehen, daß eventuell Hemmungsstoffe, die im Coli-Harn gebildet werden, weder Säuren noch Alkalien sind, daß aber im normalen Harn schon Säuren vorhanden sind, welche für das Gedeihen des Coli-Bacillus hinderlich sind. Hiermit stimmen die Untersuchungen von Rostoski.

Adsorbabilität durch Tierkohle. Frühere Versuche hatten dafür gesprochen, daß der Coli-Bacillus den Staphylococcus hemmende, durch Tierkohle adsorbable Stoffe bildet. Wie verhalten sich die eventuellen isantagonistischen Stoffe in dieser Beziehung?

Ein 12-tägiges Coli-Harnfiltrat wurde 5 Stunden mit 10 Proz. Tierkohle behandelt (F K). Zur Kontrolle diente normaler Harn (N), normaler mit Kohle behandelter (N K), nicht behandeltes Filtrat (F), zweimal nacheinander durch Chamberland-Kerze filtriertes Filtrat (F^2) und ebenfalls zweimal filtrierter normaler Harn (N^2).

Nach 24 Stunden:

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
F K	+	+ ⊙	+	+	+	+	+	+	+	+	Sehr feine, in den letzten Gläsern fast nicht sichtbare Trübung. ⊙ = Standard
F	+	+ ⊙	+	+	—	—	—	—	—	—	
F^2	+	+ ⊙	+	+	+	+	—	—	—	—	
N K	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	Schlechteres Wachstum als in N
N	+	+	+	+	+	⊙	+	+	+	+	→ ⊙ Kräftig
N^2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	→ ⊙ Noch etwas kräftiger

X enthält 4 Coli, IX = 12, VII = 132, VI = 1360, V = 13 600 etc.

Nach ca. 50 Stunden:

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
F K	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	→ ⊙ Ziemlich kräftiges Wachstum, fast wie in N K
F	+	+	+	+	⊙	—	—	—	—	—	Feine Trübung.
F^2	+	+	+	+	⊙	—	—	—	—	—	D: 0, doch besser als in F
N K	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	→ ⊙ Schwächeres Wachstum als in N
N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	→ ⊙ Sehr dicke Trübung
N^2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	→ ⊙ D: 0, kein Unterschied zwischen N und N^2

Aus diesem Versuche geht also hervor, daß das Coli-Harnfiltrat durch Schütteln mit Tierkohle auch für den arteigenen Coli-Stamm eine Verbesserung als Nährboden erfuhr. Dieser Schluß ist in diesem Falle desto eher erlaubt, als derselbe normale Harn durch dieselbe Prozedur eine Verschlechterung erfuhr. Eine Wiederholung dieses Versuches lieferte dasselbe Resultat.

Das identische Verhalten des mit Kohle geschüttelten Filtrates gegen Staphylokokken und gegen Coli-Bacillen legt die Vermutung nahe, daß es sich in beiden Fällen um dieselben oder jedenfalls ähnliche Stoffe handelt.

In einem dritten Versuch zeigte der Kontrollharn das bemerkenswerte Verhalten, daß derselbe nach der Behandlung mit Tierkohle vollkommen untauglich als Nährboden für den Coli-Bacillus geworden war, obgleich er unbehandelt ein vorzügliches Nährsubstrat für den Bacillus abgab.

Filtrierbarkeit. Die eben angeführten Versuche zeigen außerdem, daß durch ein zweimaliges Filtrieren sowohl das Filtrat als auch der normale Harn als Nährböden eine Verbesserung erfahren können. Weil dies nun auch mit dem normalen Harn mitunter zutrifft, wagt man nicht, ein teilweises Zurückhalten der eventuellen Hemmungsstoffe des Coli-Bacillus durch das Filter zu folgern. Ein erneuter Versuch mit demselben Filtrate bestätigte zwar die Richtigkeit des obigen Befundes. Aber in einem dritten Versuche mit einem anderen 15-tägigen, sehr kräftig hemmenden Filtrate, das zwei- und dreimal nacheinander durch eine Chamberland-Kerze geschickt wurde, war der Unterschied in der Hemmung zwar da, aber so klein und so schnell wieder verschwunden, daß man das Ergebnis als unsicher betrachten muß. Wahrscheinlich findet ein Zurückhalten der eventuellen Hemmungsstoffe nicht immer statt, sondern nur für bestimmte Harne und Filtrate. Ich kann mich also nicht überzeugt fühlen, daß das entwicklungshemmende Prinzip in

einem Coli-Harn durch Filtration irgend eine nennenswerte Einbuße in seiner Wirksamkeit erfährt, die nicht durch das Zurückhalten schon normaliter im Harn befindlicher schädlicher Stoffe erklärt werden könnte.

Die Frage ist nicht ohne Interesse, denn weder Eijkman noch Conradi und Kurpjuweit gelang es überhaupt, ihre Stoffe mittels Filtration von den Bakterienleibern zu trennen.

Verhalten gegenüber verschiedenen Temperaturen. Von größtem Interesse und für die ganze Frage von der Existenz entwickelungshemmender Stoffe von geradezu entscheidendem Wert sind die Untersuchungen über das Verhalten des Filtrats gegenüber verschieden hohen Temperaturen.

10 Reagenzgläser mit je 5 ccm eines 12-tägigen Coli-Harnfiltrats und zur Kontrolle 10 Reagenzgläser mit normalem Harn wurden $^1/_2$ Stunde im Wasserbade gekocht und nach dem Abkühlen mit Coli geimpft.

Nach 12 Stunden:

Colidosis	2050 Mill. Coli	205 Mill. Coli	20,5 Mill. Coli	2,05 Mill. Coli	205 000 Coli	20 500 Coli	2 050 Coli	205 Coli	8 Coli	
Gekochtes F	+	⊙	—	—	—	—	—	—	—	
Gekochter N	+	+	+	+	+	+	+	+ ⊙	—	Kräftige, allmählich abnehmende Trübung
F	+	⊙	—	—	—	—	—	—	—	
Nach 24 Stunden:										
Gekochtes F	+	+	+	+	+	+	+	⊙	—	Gute, allmählich abnehmende Trübung
Gekochter N	+	+	+	+	+	+	+	+	—	→ ⊙ Sehr kräftige Trübung
F	+	⊙ +	—	—	—	—	—	—	—	
Nach 3 Tagen:										
F	+	+	—	—	—	—	—	—	—	Die Trübung im gekochten Filtrate beinahe ebenso dick wie in dem gekochten normalen Harn
Nach 6 Tagen:										
F	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
Nach 16 Tagen:										
F	+	+	+	+	+	+	+	+	—	

Während also in dem nicht gekochtem Filtrate die Hemmungserscheinungen so kräftig waren, daß noch nach 3 Tagen nur die zwei ersten Gläser getrübt waren, zeigte das gekochte Filtrat schon nach 24 Stunden ein kräftiges Wachstum in allen Gläsern, die überhaupt sich trübten. Der Unterschied zwischen dem normalen Harn und dem gekochten Filtrate war ziemlich unbedeutend und nicht zu vergleichen mit demjenigen zwischen dem gekochten und nicht gekochten Filtrate.

Der Versuch wurde noch einmal wiederholt mit vollkommen gleichem Resultate. Es kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß der in Coli-Harnfiltraten nachweisbare entwickelungshemmende Einfluß auf Coli-Bacillen durch $^1/_2$-stündiges Kochen wenigstens in einigen Fällen sich fast vollständig beseitigen läßt.

Um die Destruktionstemperatur festzustellen, wurde folgendermaßen vorgegangen: 10 Reagenzgläser mit 5 ccm eines 9-tägigen Coli-

Harnfiltrats und zur Kontrolle 10 Gläser mit normalem Harn wurden allmählich auf dem Wasserbade erhitzt, bis die Temperatur 98° erreichte.

Die Temperatur war

nach	8	Minuten	60°
„	12	„	70°
„	16	„	80°
„	22	„	90°
„	30	„	98°

Höher stieg die Temperatur nicht.

Sobald die Temperatur 60° erreicht hatte, und immer nach weiteren 10° wurden zwei Gläser mit normalem Harn und zwei mit Filtrat herausgenommen und in Eiswasser gesteckt. Nachdem alle herausgenommen worden waren, wurden sie mit je zwei verschieden großen Bakteriendosen geimpft, nämlich mit Verdünnung IV, die 24000 und V, die 2400 Coli-Bacillen enthielt.

Der Harn und das Filtrat waren noch bei 70° vollkommen klar und durchsichtig. Bei 80° fing der normale Harn an, sich zu trüben, um bei 98° einen dicken Bodensatz abzusetzen. Das Filtrat hielt sich noch klar bei 80°, aber bei 90° entstand ein Niederschlag, der bei 98° noch zunahm.

Nach 24 Stunden:

	Ungehitzt	60°	70°	80°	90°	98°	
F + IV Coli	—	—	+	+	+	⊙ Optimum	Nach rechts zunehmende feine Trübung
F + V „	—	—	—	—	—	⊙	
N + IV „		+ Optimum	+	+	+	⊙	Abnehmende Trübung
N + V „		+ Optimum	+	⊙	?	—	Wie oben, aber geringere Trübung

Nach 41 Stunden:

	Ungehitzt	60°	70°	80°	90°	98°	
F + IV Coli	+ Sehr feine Trübung	+ <	+ <	+<	+ Optimum >	+ Trübung wie bei 80	Bis zum Optimum zunehmende Trübung
F + V „	+ Sehr feine Trübung	+ <	+ <	+<	+ <	+ Optimum	Stets zunehmende Trübung
N + IV „		+ <	+ Optimum	>+>	+ >	+ Minimum	
N + V „		+ Optimum>	+ >	+>	+ >	+ Minimum	

Nach 4 Tagen waren die bei 80—98° erhitzten F-Gläser vollkommen undurchsichtig geworden, während die Opaleszenz in den übrigen Gläsern nur noch sehr gering war. In den N-Gläsern hatte sich der Unterschied verwischt und alle zeigten dieselbe Opaleszenz, welche übrigens derjenigen der bei 80—90° erhitzten F-Gläser entsprach.

Aus diesem Versuch geht erstens deutlich hervor, daß der angewandte normale Harn mit zunehmender Erhitzung als Nährboden eine Verschlechterung erfuhr. Zweitens ist ebenso unzweideutig ersichtlich, daß der wachstumhemmende Einfluß des Filtrats schon bei 60° anfing, eine Einbuße zu erfahren, um bei 90—98° fast ganz zu verschwinden, so daß bis zu dieser Temperatur erhitztes Filtrat und erhitzter normaler Urin fast dasselbe Wachstum lieferten.

Um nun bei einer gegebenen Temperatur auch die Destruktionsgeschwindigkeit festzustellen, wurde folgendermaßen vorgegangen: Ein Wasserbad wurde auf 72° eingestellt. Je 40 Reagenzgläser mit dem zu dem vorigen Versuche verwandten Filtrate und mit normalem Harn wurden alle auf einmal in das Wasserbad gestellt. Nach $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2 und $2^1/_2$ Stunden wurden je 10 Gläser von den beiden Flüssigkeiten herausgenommen und in Eiswasser abgekühlt. Dabei zeigte sich der Inhalt der 2 und $2^1/_2$ Stunden erhitzten Gläser trübe. Schließlich wurden alle Gläser nebst je 10 nicht erhitzten Kontrollgläsern mit 10 verschiedenen Coli-Dosen infiziert.

Destruktionsgeschwindigkeit bei 72°.

Nach 24 Stunden:

Colidosis	3900 Mill. Coli	390 Mill. Coli	39 Mill. Coli	3,9 Mill. Coli	390 000 Coli	39 000 Coli	3900 Coli	390 Coli	50 Coli	3 Coli	
F nicht erhitzt	+	⊙	—	—	—	—	—	—	—	—	Beginnende Trübung
F $^1/_4$ Stunde erhitzt	+	+ ⊙	+	—	—	—	—	—	—	—	Etwas kräftigere Trübung als oben
F $^1/_2$ „ „	+	+ ⊙	+	—	—	—	—	—	—	—	dto.
F 1 „ „	+	+ ⊙	+	—	—	—	—	—	—	—	dto. Der Unterschied gegen oben eben bemerkbar
F 2 Stunden erhitzt	+	□	+	+	+	+	+	⊙	—	—	Bedeutende Verbesserung des Wachstums
F $2^1/_2$ Stunde „	+	+	+	+	□	+	+	+ ⊙	—	—	Noch etwas besser
N nicht erhizt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Alle kräftig, mit Ausnahme vom letzten Glase, gleich stark getrübt
N $^1/_4$ Stunde erhitzt											Kräftige Trübung in allen Gläsern
N $^1/_2$ „ „											dto.
N 1 „ „											dto.
N 2 Stunden „											dto.
N $2^1/_2$ Stunden „											Geringere Trübung als oben, aber doch noch sehr kräftig

Nach 40 Stunden:

Colidosis	3900 Mill. Coli	390 Mill. Coli	39 Mill. Coli	3,9 Mill. Coli	390 000 Coli	39 000 Coli	3900 Coli	390 Coli	50 Coli	3 Coli	
F nicht gekocht	+	⊙	—	—	—	—	—	—	—	—	
F $^1/_4$ Stunde gekocht	+	+	+	+	⊙	+	—	—	—	—	Sehr feine Trübung
F $^1/_2$ „ „	+	+	+	+	+	⊙	—	—	—	—	Kaum ein Unterschied gegenüber der oberen Reihe
F 1 „ „	+	+	+	+	+	+	+	⊙	—	—	dto.
F 2 Stunden „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊙	In den Gläsern 3—7 feiner als in den zu beiden Seiten liegenden
F $2^1/_2$ Stunde „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ → ⊙	Ziemlich kräftige Trübung

In den N-Gläsern ist kein Unterschied mehr zu sehen, nur in den $2^1/_2$ Stunden erhitzten ist die Trübung geringer. Im Vergleich mit den N-Gläsern besteht noch ein recht bedeutender Unterschied zu Gunsten der ersteren, nur die $2^1/_2$ Stunden erhitzten F- und N-Gläser sind fast gleich kräftig getrübt.

Nach 3 Tagen hatte das Wachstum im nicht erhitzten F noch keinen sichtbaren Fortschritt gemacht, dagegen nahm die Trübung zu in den übrigen Reihen und war jetzt sichtbar in allen Gläsern, mit Ausnahme des letzten der beiden ersten Reihen. Es war nun die mit der längeren Erhitzung Hand in Hand gehende Verbesserung des Wachstums sehr deutlich zu erkennen.

Nach 6 Tagen waren 5 Gläser in dem nicht erhitzten Filtrat ganz leicht opaleszierend, während die erhitzten Gläser sehr kräftig getrübt

waren. Ja es bestand kaum ein Unterschied mehr gegenüber den entsprechenden Gläsern mit normalem Harn. Nur die letzten 5 Gläser der $^1/_4$ resp. $^1/_2$ Stunde erhitzten Reihen waren noch klarer als die übrigen Gläser. Erst nach 14 Tagen war auch dieser Unterschied verschwunden. Dann hatte die Trübung auch in den ersten Gläsern des unerhitzten Filtrates bedeutend zugenommen und war als eine feine Opaleszenz im 7. Glase eben sichtbar geworden.

Der Versuch zeigt also ganz in Uebereinstimmung mit den früheren Versuchen, daß schon bei kurzdauernder Einwirkung einer Temperatur von 72° die entwickelungshemmenden Eigenschaften des Filtrats eine Einbuße leidet. Je länger erhitzt wird, desto bedeutender ist diese Schädigung. Doch wurde das Filtrat nicht vollständig regeneriert, sondern eine gewisse Verlangsamung in der Entwickelung der Bakterien blieb noch bestehen.

Der schädliche Einfluß der Erhitzung bei einer Temperatur von 72° auf den normalen Harn konnte ebenfalls konstatiert werden, wenn derselbe auch nicht den Grad, wie nach Anwendung noch höherer Temperaturen erreichte.

Am nächsten liegt es nun unzweifelhaft, zu folgern, daß der Coli-Bacillus in einigen Harnen thermolabile Stoffwechselprodukte hervorbringt, welche entwickelungshemmend auf die eigene Art wirken. Vielleicht ist jedoch auch eine andere Erklärung denkbar. Durch das Kochen können möglicherweise Stoffe, die von den Bakterien nicht weiter angreifbar sind, zu angreifbaren Produkten zerlegt werden.

Diesen isantagonistischen thermolabilen Stoffwechselprodukten kann sicherlich der größte oder jedenfalls ein großer Anteil an dem schlechten Wachstum im Filtrat zugeschrieben werden, denn sonst wäre es nicht verständlich, wie das Filtrat durch die Erhitzung, obgleich sie den Harn als Nährboden verschlechterte und also der Verbesserung durch die Zerstörung der eventuellen Hemmungsstoffe entgegenwirkte, eine so bedeutende Nahrungstauglichkeit für die Bacillen erlangen konnte. Der noch bestehende Unterschied kann vermutlich mehrere Gründe haben, vor allem eine gewisse Verarmung des Nährbodens und vielleicht thermostabile Stoffwechselprodukte.

Ich kann hier nicht unerwähnt lassen, daß bei den weiteren Untersuchungen es mitunter vorkam, daß ein Filtrat gar nicht oder nicht wesentlich besser als Nährmedium für die arteigenen oder fremde Bakterien durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen wurde. Diese Beobachtung wurde z. B. bei einem 60 Tage alten Coli-Harnfiltrate (Coli Mo) gemacht. In älteren Kulturen muß ein Nahrungsmangel sich stets mehr geltend machen als in einer relativ jungen Kultur. Weiter können die Hemmungsstoffe schon aus einer so alten Kultur verschwunden sein. Schließlich ist es gar nicht gesagt, daß der Coli (Mo) gerade in dem untersuchten Harne solche Hemmungsstoffe in nennenswertem Grade gebildet hatte. Wissen wir doch, wie z. B. die Bildung des Diphtherietoxins von einer Menge uns noch unbekannter Umstände abhängt, so daß bei scheinbar vollkommen gleichen äußeren Bedingungen die eine Kultur reichlich, die andere gar kein Toxin bilden kann. Krencker und Lode haben ebenfalls ein sehr wechselndes Verhalten der antagonistischen Stoffe gegenüber höheren Temperaturen nachweisen können.

Spezifische Affinität zu dem Colibacillus? Zur Ermittelung, ob nicht etwa die hypothetischen Coli-Bacillen ebenso wie durch Tierkohle gebunden werden konnten, wurde ein sehr wirksames

9-tägiges Filtrat 2 Stunden in der Schüttelmaschine mit einer großen Quantität Coli-Bacillen aus ca. 24 Stunden alten Agarkulturen geschüttelt und dann auf $^1/_4$ Stunde in den Brutschrank gestellt. Nach Filtration Verteilen in Reagenzröhren. Das Filtrat zeigte nicht die geringste Abnahme in der Wirksamkeit, obgleich schon die zweimalige Filtration möglicherweise dies hätte hervorrufen können.

Verhalten gegenüber Sera. Um das Verhalten der Filtrate gegenüber dem Serum eines gegen denselben Coli-Bacillus immunisierten Tieres (Ziege) zu prüfen, wurde ein Versuch mit dem 9-tägigen Coli-Harnfiltrate angestellt. 5 ccm des Filtrats wurden teils mit Coli-Serum, teils mit normalem Serum in zwei Dosen à 0,5 und 0,05 versetzt und dann mit 18000 Coli Bacillen infiziert. Selbstredend Kontrollversuche. Nach 2 resp. 4 Tagen sah das Protokoll folgendermaßen aus:

	Nach 2 Tagen:				Nach 4 Tagen:			
	0,5 Serum	0,05 Serum	0 Serum		0,5 Serum	0,05 Serum	0 Serum	
F + Coliserum	—	—	—		—	—	—	
F + Normalserum	—	—			—	+		Feine Trübung
N + Coliserum	—	—			+	+		Noch feinere
N + Normalserum	+	+		Beginnende Trübung	+	+		Gutes Wachstum

Es konnte also durch Coli-Serum keine Neutralisation des hemmenden Prinzipes erzeugt werden. Warum die kleine, aber nicht die große Normalserumdose ein Wachstum in dem Filtrat hervorrief, ist nicht recht klar. Möglicherweise war es die Zufuhr von neuem Nährstoff in so kleiner Menge, daß die natürliche Bakterizidität des Serums ihre Wirkung nicht entfalten konnte, welche das verbesserte Wachstum bewirkte. Ebensowenig gelang es, durch Zusatz von verschiedenen Dosen des Filtrats eine Verminderung oder eine Vergrößerung des Agglutinationswertes des Coli-Serums hervorzurufen.

Dialysierbarkeit. Um die Dialysierbarkeit durch tierische Membranen (Condome aus Ziegenblinddarm) zu ermitteln, wurden mehrere Versuche angestellt, die jedoch wegen mehrerer, gleich zu erwähnender Umstände zu keinem eindeutigen Resultat führten.

Wurde normaler Harn gegen eine große Menge Wasser dialysiert, so verlor er fast vollständig seine Eigenschaft als Kulturmedium für den Coli-Bacillus. Es wurde deswegen in den folgenden Versuchen so vorgegangen, daß Filtrat und Kontrollharn gegen gleiche Teile Wasser dialysiert wurden und dann sowohl die Außenflüssigkeit (das Dialysat) als der Rest auf ihre hemmenden Eigenschaften untersucht.

Das einzige Resultat, welches konstant aus allen Versuchen hervorging, war das merkwürdige Verhalten, daß sowohl das Dialysat als der Rest des Filtrates, obgleich sie offenbar nicht mehr Nährstoff enthalten konnten als das Filtrat, nichtsdestoweniger beide allein ein kräftigeres Wachstum ergaben als das Filtrat. Eine befriedigende Erklärung dieses Phänomens kann ich nicht geben.

Eine große Anzahl Versuche mit dem von Lode angegebenen, sehr praktischen, durch eine Pergamentscheidewand in zwei Hälften wasserdicht zerlegten Petri-Schalen lieferte stets ein negatives Resultat. Es war nicht der geringste Unterschied in Bezug auf die Zahl und Größe

der Kolonieen zwischen den in der Nähe der Scheidewand und den weiter entfernt gelegenen Teilen der Platte zu bemerken.

Es muß daher die Frage, ob die hypothetischen Hemmungsstoffe dialysabel sind, noch offen gelassen werden.

Verhalten gegenüber Alkohol und Aether. Die Beurteilung der Versuchsergebnisse wurde sehr durch den Umstand erschwert, daß einerseits im normalen Harn mittels Alkohol extrahierbare, wachstumhemmende Stoffe sich nachweisen ließen, und andererseits, daß durch Extraktion mittels Aether einige Harne als Nährböden bedeutend verschlechtert wurden. Höchstens kann aus den Versuchen der Schluß gezogen werden, daß nichts gegen die Alkohollöslichkeit der hypothetischen Stoffe spricht.

Es können deswegen die Details der betreffenden Untersuchungen hier übergangen werden.

Bildet der Colibacillus auch in Bouillon isantagonistische Stoffe? Nach allen diesen Untersuchungen, die auf das Vorhandensein in den meisten Coli-Harnfiltraten von den eigenen Coli-Stamm hemmenden Stoffwechselprodukten mit einer an Gewißheit grenzenden Wahrscheinlichkeit hindeuteten, wurden noch einige wenige Versuche vorgenommen, um zu ermitteln, ob ähnliche Stoffe auch in Bouillonkulturen sich nachweisen ließen.

Es wurden 2 Filtrate von 12 resp. 30 Tage alten Bouillonkulturen mit 10 verschiedenen Coli-Dosen nach dem üblichen Verfahren geimpft. Die Trübung war in dem älteren Filtrat weniger intensiv als in dem 12-tägigen, und in diesem wieder etwas geringer als in normaler Bouillon, aber nach wenigen Stunden waren alle Gläser derselben Reihe vollkommen gleich trübe, so daß von einer Verzögerung des Wachstums kaum die Rede sein kann.

Die Versuche bestätigten also die Angaben Eijkmans, Conradis und Kurpjuweits u. A., denen es auch nicht gelang, durch Filtration aus Coli-Bouillon wachstumhemmende Stoffe zu isolieren. Wie ich noch weiter unten des näheren berichten werde, gelang es mir aber, in Pyocyaneus-Bouillonfiltraten, in Uebereinstimmung mit Krencker, nicht nur wachstumhemmende, sondern sogar auch bakterizide Eigenschaften nachzuweisen.

Eine Beobachtung, welche bei diesen Versuchen gemacht wurde, sei hier erwähnt, obgleich ich vorläufig davon absehen muß, auf die Ursache dieses Phänomens näher einzugehen. Es zeigte der Bodensatz in den Bouillonfiltratröhren ein zusammengeballtes, bröckeliges, wie agglutiniertes Aussehen. In Kontrollbouillon war der Bodensatz dagegen schleimig, wolkig und durch Schütteln leicht verteilbar und wenigstens 4mal so hoch als derjenige des Filtrats. In mikroskopischen Präparaten von Filtrat waren die Bacillen sehr kurz und in großen Haufen zusammengeballt. In Bouillon hatten die Bacillen eine schlankere Form und lagen mehr gleichmäßig im Gesichtsfelde verteilt.

Es scheint also, als wären in der Bouillon irgend welche agglutinierende Substanzen entstanden. Warum keine wachstumhemmenden Stoffwechselprodukte in der Bouillon, aber wohl in dem Harn entstanden, wie es mit großer Wahrscheinlichkeit der Fall war, bin ich nicht in der Lage zu entscheiden.

Bedeutung der isantagonistischen Stoffe für die antagonistischen Erscheinungen zwischen dem Colibacillus und dem Staphylococcus. Es erübrigt nun, die mögliche Bedeutung

dieser Stoffe für die Erklärung des von dem Coli-Bacillus auf den Staphylococcus ausgeübten hemmenden Einflusses zu erörtern. Wenn man, wie z. B. Eijkman und Lode dies tun, eine Identität der isantagonistischen und der heteroantagonistischen Stoffe voraussetzt — das gleiche Verhalten gegenüber Kohle und Erhitzung spricht für die Zulässigkeit eines solchen Vorgehens — muß man sich jedenfalls vorstellen, daß die erwähnten Stoffe kräftiger auf den Staphylococcus als auf den eigenen Coli-Stamm einwirken, denn sonst wären die experimentell erhobenen Tatsachen bei den Flaschen- und besonders bei den Blasenversuchen gar nicht erklärlich. Daß dasselbe auch für die isantagonistischen Stoffwechselprodukte des Staphylococcus angenommen werden muß, ist schon früher hervorgehoben worden.

Untersuchungen über andere Bakteriensymbiosen.

Weniger eingehend wurde die Symbiose des Coli-Bacillus mit dem Streptococcus, dem Proteus und dem Bacillus pyocyaneus untersucht. Da die Experimente ganz nach demselben Schema ausgeführt wurden, sollen nur die Ergebnisse derselben hier angeführt werden:

Das Verhalten des Colibacillus zu dem Streptococcus urae ovalis. Es wurden 2 vollständige Serien ausgeführt. Beide Serien verliefen in der Beziehung übereinstimmend, daß ein ausgesprochener Antagonismus in den Blasenversuchen nicht zum Vorschein kam.

Von den Flaschenversuchen zeigten die beiden mit der Kombination Streptococcus > Coli-Bacillus, daß eine kleine Coli-Dosis von einer Streptokokkenübermacht stark in ihrer Entwickelung aufgehalten, ja sogar vernichtet werden konnte.

In den übrigen Kombinationen gediehen die beiden Bakterien gut nebeneinander während der 4- resp. 5-monatlichen Beobachtungsdauer. In einem einzigen Falle (Coli = Strept.) waren die Coli-Bacillen nach 5 Monaten tot, während die Streptokokken noch am Leben waren. In allen den übrigen Fällen waren die Coli-Bacillen nach dieser Zeit die zahlreicheren.

Es scheint also der Streptococcus in den Flaschenversuchen einen kleinen Vorteil gegenüber dem Coli-Bacillus zu besitzen. Krogius und Wallgren dagegen wollen, auf Grund ihrer Reagenzglasversuche, dem Streptococcus einen ausgesprochenen Antagonismus gegenüber dem Coli-Bacillus zuschreiben.

Zwei 7- resp. 8-tägige Streptokokkenharnfiltrate zeigten eine deutliche Hemmung gegenüber dem Coli-Bacillus. Nach $^1/_2$-stündigem Kochen war die Hemmung geringer, obgleich der Kontrollharn eine Verschlechterung als Nährboden erfahren hatte. Gegen den arteigenen Streptococcus erwies sich das Filtrat sehr stark hemmend.

Die umgekehrten Versuche, welche mit 2 auf die arteigene Bakterie sehr wirksamen, 17- resp. 38-tägigen Coli-Harnfiltraten und Streptokokken ausgeführt wurden, zeigten keine deutlichen Hemmungserscheinungen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen stimmen gut mit den klinischen Beobachtungen überein; Streptokokken und Coli-Bacillen trifft man nämlich sehr oft zusammen im Harn, namentlich in inveterierten Fällen. Die Bakterien scheinen sich gut zu vertragen, und das numerische Verhältnis fällt gewöhnlich zu Gunsten des Coli-Bacillus aus.

Das Verhalten des Colibacillus zu Proteus. Die gegenseitigen Beziehungen in den künstlichen Blasen konnten infolge ver-

schiedener Umstände nicht gründlich genug studiert werden. Was die Flaschenversuche betrifft, so zeigten sie übereinstimmend, daß unabhängig von dem primären numerischen Verhältnis der beiden Bakterien, der Proteus rasch den Harn so stark ammoniakalisch machte, daß beide Bakterien starben. Dies geschah spätestens nach 6 Tagen. Es verhielt sich also der Proteus ungefähr wie der Staphylococcus, nur daß er in jeder Beziehung viel energischer war. Die Alkaleszenz des Harns trieb er gewöhnlich bis zu 35 à 40 ccm $^1/_{10}$ normal HCl auf 10 ccm Harn.

Nach der Neutralisation eines steril gewordenen Proteus-Harns konnten sowohl der Proteus als der Coli-Bacillus wieder in demselben gedeihen. In Coli-Harnfiltraten schien der Proteus nicht in seinem Wachstum gehemmt zu werden.

In Reagenzgläser geimpft, konnte der Proteus mitunter sogar 6 Wochen am Leben bleiben, was wahrscheinlich auf dem raschen Verdunsten des Ammoniaks beruhte. Doch können vielleicht auch andere Umstände mitgespielt haben, denn auch in den gut verschlossenen Flaschen fiel die Alkaleszenz sehr bald von ihrem Maximum auf $^1/_2$ oder $^1/_3$ der ursprünglichen Höhe.

Das Verhalten des Colibacillus zu Bacillus pyocyaneus. Das Studium der Symbiose dieser Bakterien erschien mir besonders interessant, einerseits weil 3 von mir beobachtete Fälle darauf hinzuweisen schienen, daß der Pyocyaneus in der Blase eine antagonistische Wirkung gegen andere Bakterien entfaltet, und zweitens weil durch die Untersuchungen von Emmerich und Löw, Krencker u. A. die Bildung stark bakterizider Stoffe in Pyocyaneus-Kulturen zum mindesten sehr wahrscheinlich war.

Die vorgenommenen Versuche zeigten so recht, welche ausschlaggebende Rolle der angewandte Harn spielt, so daß es schwierig war, irgendwelche allgemeine Gesetze herauszufinden. Der Pyocyaneus wuchs gut im Harn und machte ihn allmählich ammoniakalisch, bis zu ca. 10 ccm $^1/_{10}$ N Säure auf 10 ccm Harn. Während er in den meisten Harnen monatelang, 2—5 Monate oder mehr, leben konnte, gab es auch Urine, in denen er nach ca. 3 Wochen zu Grunde ging.

Eine Beeinflussung der einen Bakterie durch die andere war in den Blasenversuchen nicht zu verkennen. In den Blasenversuchen stieg die Zahl des Pyocyaneus fast immer höher als diejenige des Coli-Bacillus. Eine Vertreibung der einen Art durch die andere fand nicht statt, wenigstens innerhalb der 6-tägigen Beobachtungsdauer. Bemerkenswert war das rapide Wachstum einer ganz kleinen Pyocyaneus-Dosis bis zu dominierender Stellung. Dies wurde mehrmals beobachtet, namentlich bei spontaner Infektion der Blasen mit Pyocyaneus.

Die Flaschenversuche verliefen meistens so, daß unabhängig von dem primären Verhältnis der Bakterien die Minorität sich stets entwickeln konnte. Nach einiger Zeit wurde der Pyocyaneus der zahlreichere. In diesem Verhältnisse konnten beide Arten Monate friedlich nebeneinander leben, dies namentlich wenn das Ausgangsverhältnis Coli $>$ Pyocyaneus gewesen war. Schließlich waren beide oder nur der Coli-Bacillus tot.

(Schluß folgt.)

1.

Amöben

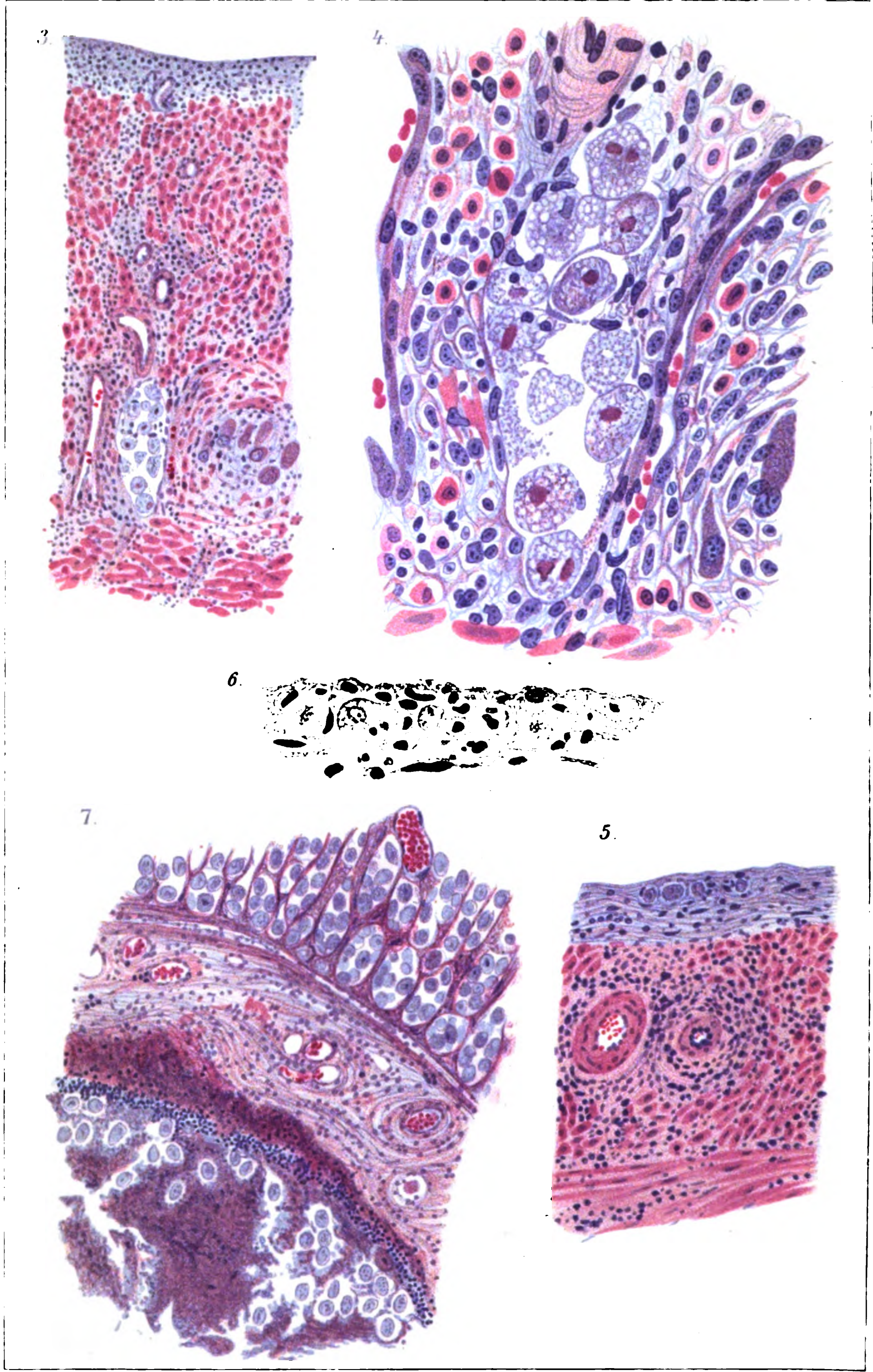
2

A. Kirchner gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.





A. Kr...ner gez.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena

Das Durchwandern der Dysenterie-Amöben durch die Darmwand.

Von Marine-Generaloberarzt Prof. Dr. **Reinhold Ruge** und Dr. **Esau.**

Mit 2 Tafeln.

In der neueren Literatur sind einzelne Stimmen laut geworden, die die Dysenterie-Amöben als Krankheitserreger überhaupt leugnen. Von anderen Autoren wiederum werden die Dysenterie-Amöben wohl als Krankheitserreger anerkannt, ihnen aber die Fähigkeit, die Darmwand aktiv zu durchdringen, abgesprochen, obgleich Forscher wie Musgrave, Rogers und viele andere sich auf Grund ihrer Untersuchungen dafür ausgesprochen haben.

Nun glückte es seinerzeit bei unseren gemeinsamen Studien über Amöbenruhr Dr. Esau, eine Reihe von Präparaten zu gewinnen, die die in Rede stehenden Verhältnisse so instruktiv wiedergeben, daß ich glaube, mich lediglich auf eine Erklärung der nebenstehenden Abbildungen beschränken zu können.

Die Bilder 1—6 stammen alle von einem und demselben, außerordentlich chronisch verlaufenden Fall, während die später von mir beobachteten, schweren, schnell tödlich verlaufenden Fälle (Fig. 7) vorwiegend Abscesse in der Submucosa aufwiesen. Es ist nun interessant zu sehen, daß sich die Dysenterie-Amöben in diesen kleinen Abscessen der Submucosa dem Eiter gegenüber ebenso verhalten wie in den Leberabscessen, d. h. da, wo der Eiter erscheint, verschwinden die Amöben. Wir finden daher auch in diesen kleinen Abscessen die Amöben zahlreich nur am Rande und in den Wandungen des Abscesses geradeso wie bei den Leberabscessen.

Tafelerklärung.

Die Präparate sind in verschieden starken Vergrößerungen wiedergegeben, um sowohl entsprechende Uebersichtsbilder zu haben, als auch die Amöben möglichst deutlich hervortreten zu lassen.

Fixierung in Sublimatalkohol. Färbung mit Hämotoxylin-Eosin.

Fig. 1—5. Katzendarm. Amöbenstamm aus China. Infektion einer jungen Katze per anum. Krankheitsdauer 6 Wochen. Tod unter allgemeiner Erschöpfung.

Fig. 1. Amöben in der Submucosa. Leitz Obj. 3, Okul. 3.

Fig. 2. Eindringen der Amöben in die Muscularis. Leitz Obj. 3, Okul. 4.

Fig. 3. Amöben in einem Gewebsspalt zwischen der Ring- und Längsmuskelschicht. Rechts eine Gruppe von Nervenzellen. Leitz Obj. 3, Okul. 1.

Fig. 4. Dieselben Amöben wie in No. 3 stark vergrößert. Leitz $^{1}/_{12}$ Immersion.

Fig. 5. Amöben in der Serosa. Leitz Obj. 3, Okul. 1.

Fig. 6. Dieselben Amöben wie in Fig. 5 bei starker Vergrößerung. Leitz Obj. 4, Okul 4.

Fig. 7. Katzendarm. Amöbenstamm aus Neu-Guinea. Infektion einer großen, starken, erwachsenen Katze per os. Krankheitsdauer 3 Wochen. Sehr starke Infektion.

Neben der starken Infektion der Drüsen ein Absceß in der Submucosa. Die Amöben liegen alle an der Absceßwandung. Leitz Obj. 3, Okul. 1.

Beobachtungen über Culiciden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio** und **J. Rochaz de Jongh.**

Mit 2 Figuren.

Unter den Beobachtungen, welche wir vom 1. Nov. 1906 bis Ende Oktober 1907 über Culiciden gemacht haben, scheinen uns folgende ein gewisses Interesse für die Biologie dieser Dipteren zu bieten.

a) Beobachtungen über die Ueberwinterung der Culiciden.

Die kolossale Quantität Culex-Larven, welche in den mit einer Eisschicht überzogenen Pfützen überwintern können, kann annähernd durch folgende Beobachtung geschätzt werden:

Am 2. Dez. 1906 konnten wir in einer Pfütze der Orbeebene (Kanton Waadt), die, mit einer Eisschicht bedeckt, ungefähr 5 cm tief war und 6 qm maß (Lufttemperatur 0°, Wassertemperatur +1°), mit jedem Weißblechsiebstrich mehr als 1000 kleine Culex-Larven fangen. Da das Sieb ungefähr 80 ccm hielt und die Wassermasse der Pfütze auf 3000 ccm geschätzt werden konnte, kann man sagen, daß annähernd 3750000 Culex-Larven in dieser Pfütze überwinterten.

Dieses Exempel beweist mehr und mehr die Wichtigkeit des von uns in vorangehenden Arbeiten festgestellten Grundsatzes, d. h. daß in unseren Gegenden, wenn man gute Resultate in der Bekämpfung der Culiciden mit der Petrolierung haben will, man dieselbe sehr rasch nach Ende des Winters ausführen muß, um die Verpuppung der überwinterten Larven und ihre nachfolgende Entwickelung in Imagines zu verhindern.

Die Larven dieser Pfütze behielten den ganzen Winter die gleiche Länge. Erst in den 2 ersten Wochen des April nahmen sie an Größe zu; am 28. April war die Pfütze voll von Puppen (Lufttemp. +5°, Wassertemp. +8°), welche am 5. Mai Imagines von C. nemorosus gaben (Lufttemp. +12°, Wassertemp. +15°).

Wir konnten auch feststellen, daß in der schmalen Schicht Wasser, die zwischen zwei Eisschichten eingeschlossen bleibt, Larven von Anopheles und Culex am Leben bleiben. So fanden wir am 20. Jan. 1907 (Lufttemp. +1°, Wassertemp. +0,5°) in Orbe Larven von Culex und eine Larve von Anopheles bifurcatus in obengenannten Verhältnissen.

Wir beobachteten im Frühjahr 1907 ein zahlreiches Ausschlüpfen aus Eiern, welche trocken überwintert hatten, im Walde von Montcherand (Orbe). Vertiefungen im Boden dieses Waldes, welche Ende Herbst trocken lagen, füllten sich den Winter über mit Schnee an, und am 3. März 1907, nach der Schneeschmelze, enthielten sie zahlreiche, 2 mm lange, 1—2 Tage alte, weißliche Culex-Larven.

Die überwinternden Larven von Anopheles waren im Winter 1906/07 in der Orbeebene sehr selten. Wir machten schon auf diese Tatsache aufmerksam für Tunesien[1]). Wir fanden aber Weibchen von

1) Bull. de la soc. vaud. des sc. nat. T. XLIII. Lausanne 1907. p. 201.



A. maculipennis, welche in den Zimmern überwinterten. Erst am 25. Mai (Lufttemp. + 20°, Wassertemp. + 25°) fanden wir Larven und eine Puppe von A. maculipennis in einer Pfütze der Orbeebene, in welcher sie dann am 8. Juni zahlreich waren (Lufttemp. + 19°, Wassertemp. + 20°).

b) Beobachtungen über Culicidenbrutplätze.

Wir sahen als Culex-Brutplätze dienen: einen zerbrochenen Teller in einem Treibhause, der Abfluß des Gußsteines eines durch Schnaken infizierten Hauses, alte Blechschachteln mit wenig Wasser darin, alle Wasserbehälter zum Begießen des Gartens und die Jauchenpfütze des Baumgartens des Kantonspitals, in welcher Millionen Larven und Puppen wimmelten.

Wir hatten auch Gelegenheit, interessante Culicidenbrutplätze in den Veltliner Hochalpen zu beobachten, in einem Walde, 1500 m hoch gelegen, in welchem man von C. nemorosus stark belästigt wurde. Vertiefungen in der felsigen Seitenwand des tiefeingeschnittenen Flusses, die sich mit stagnierendem Wasser angefüllt hatten und einige Algenpflänzchen enthielten, bildeten diese Brutplätze (Fig. 1). Einer von uns hat schon solche Brutstätten für den Kanton Tessin[1]) angegeben. In einer früheren Arbeit hat einer von uns[2]) die 1907 beobachteten interessanten Mückenbrutplätze Tunesiens beschrieben, wo auch stark salzhaltige Wässer die Larven und Puppen dieser Dipteren beherbergen können. Auch konnten wir notieren, daß Aenderungen, welche in den von uns schon jahrelang bekannten Mückenbrutplätzen eintraten, die Zahl und Qualität der darin lebenden Culicidenlarven modifizieren können. So z. B. in einem Graben der Orbeebene, der immer sehr viele Larven von A. maculipennis enthielt, konnten 1907 nur vereinzelte Larven dieser Art gefunden werden, da der Graben durch Säubern von Wasserpflanzen und Gräsern befreit worden war, welche den Lauf des Wassers hemmten.

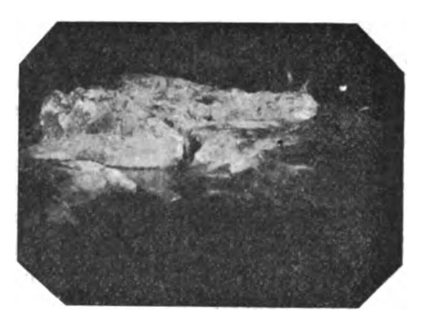


Fig. 1.

In einem im Boden versenkten Fasse in dieser gleichen Ebene, in dem wir in den letzten Jahren viele Larven von Anopheles und Th. annulata fangen konnten, fanden wir 1907 nur Larven von C. nemorosus und speziell von C. pipiens; es kam davon, daß das ohnehin schon faule Wasser dieses Fasses durch Hineinwerfen von Kuhmist zu Jauche geworden war.

c) Beobachtungen über die Wirkung der Winde und des Temperaturwechsels auf die Zerstreuung der Culiciden.

Es bestätigt sich immer mehr für uns, daß die Culiciden während der windigen Tage wenig Neigung zum Umherfliegen und Stechen zeigen. Wir konnten diese Tatsache wiederholte Male in der Nähe einer Pfütze

1) I focolai malarici del canton Ticino. Bellinzona 1905.
2) Bull. de la soc. vaud. zitiert.

in der Orbeebene feststellen. Bei dieser Pfütze, die am Grunde einer ziemlich großen Vertiefung des Bodens steht und durch Gesträuch umgeben wird, wurden wir an windstillen Tagen von zahlreichen Weibchen von C. cantans, C. pipiens und C. nemorosus gestochen. An windigen Tagen hingegen war davon nichts zu bemerken, obgleich die Temperatur hoch war (+ 19°). An diesen Tagen flogen nur wenige Culex, die sich nur wenig über die Oberfläche des Wassers erhoben; wollten wir uns stechen lassen, so waren wir gezwungen, tiefer als das Niveau des Gesträuches niederzusitzen, da wo wir windgeschützt waren. Es fehlte nicht an Imagines, denn schüttelte man die Sträucher und das Schilf etwas stark, so flogen viele davon, aber nur um auf ein anderes windgeschütztes Blatt oder Gras zu flüchten.

Wir konstatierten wieder dieses Jahr, wie ein plötzliches Sinken der Temperatur im Monat September das Eindringen einer Menge Schnaken in die Zimmer zur Folge hatte, Schnaken, die von der Orbeebene kamen.

d) Beobachtungen über Mückenstiche.

Dieses Jahr waren die Schnaken eine wahre Plage, nicht nur in der Ebene, sondern auch im Gebirge. In den Alpen wurde man besonders von C. nemorosus, bei hellem Tage und bis zu 2000 m angefallen. Man fand sie in allen Waldungen. Wir stellten experimentell auf uns selbst fest, daß vom Augenblick des Stiches bis zum Vollsaugen 1 bis 2 Minuten vergingen. Die Schnaken fliegen dann schwerfällig weg, bis zu einem nahen Strauch, wo man sie leicht einfangen kann. Wir bemerkten, daß sie manchmal 2mal nacheinander stechen, wahrscheinlich wenn sie sich das 1. Mal nicht genügend vollgesaugt hatten. Die Imagines von C. cantans sind außerordentlich freßlustig und ihr Stich ist sehr schmerzhaft.

Der Einfluß der Bekleidung war bei diesen Experimenten sehr augenscheinlich: einer von uns, braun gekleidet, wurde viel öfters angefallen. als der andere, der weiße Kleider trug; dieser aber wurde an den Knöcheln gestochen, weil er schwarze Strümpfe trug.

In gewissen Fällen scheint es, als ob die Culiciden sich daran gewöhnt hätten, Tierblut zu saugen, so daß sie dieses vor Menschenblut vorziehen. So z. B. notierte einer von uns in den Veltlineralpen, daß an einem Ort, wo er immer von vielen C. nemorosus gestochen wurde, wenn er dort allein war, wenn eine andere Person und ein weißer Hund dabei waren, so fielen die Mücken diesen an und plagten ihn arg, während die in der Nähe sitzenden Personen gar nicht belästigt wurden. Die Sache ist um so interessanter, als die weiße Farbe des Hundes diesen mehr gegen die Mücken hätte schützen sollen, als uns unsere dunklen Kleider.

Während des Winters konstatierten wir die geringe Tendenz der Culiciden, Culex wie Anopheles, zu stechen, auch in gewärmten Zimmern.

Wir konnten uns wieder nicht von Th. annulata stechen lassen, trotzdem sich diese im Monat Juli auf uns setzten.

Wir wollen nicht mit diesen Beobachtungen über das Stechen der Mücken abschließen, ohne noch einmal die Aufmerksamkeit der Aerzte und Hygieniker auf die schädigende Wirkung zu lenken, welche die Stiche, besonders auf junge Kinder, ausüben. Wir hatten wiederum Gelegenheit, dieses Jahr Brustkinder zu sehen, welche ganz entstellt waren von den vielen Stichen und für die es unmöglich war, zu schlafen und die Brust

zu nehmen. Wir werden nie müde werden, zu zeigen, welch hygienisches und menschliches Werk es wäre, die Häuser der Bahnwärter mit Drahtnetzen zu beschützen, auch in nichtmalarischen Mückengegenden.

e) Beobachtungen über das Eierlegen der Culiciden.

Wir machten dieses Jahr zahlreiche Experimente mit Imagines von C. pipiens, C. cantans, C. nemorosus, welche in einem großen

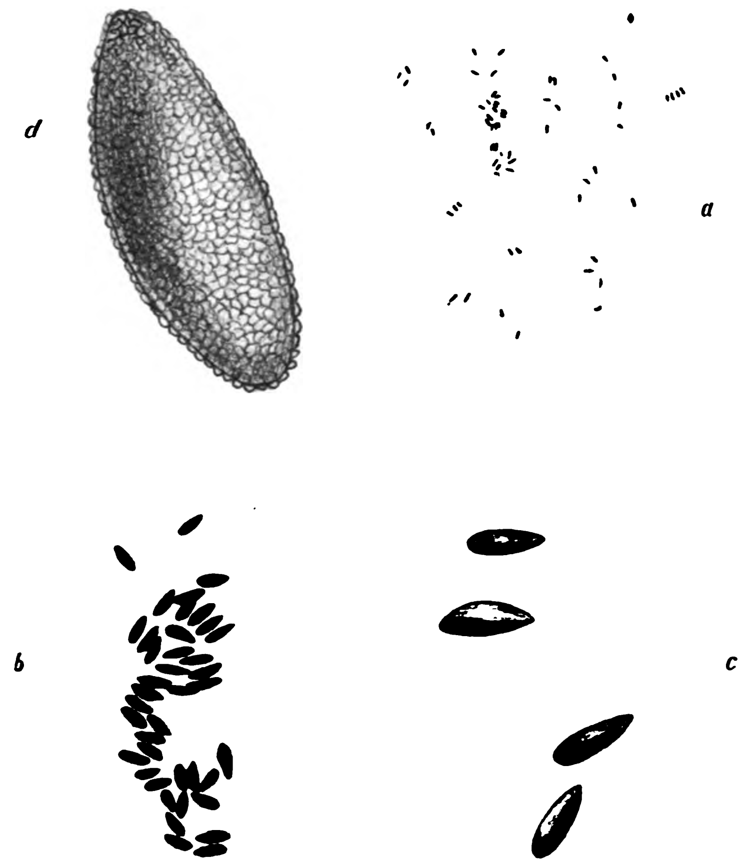


Fig. 2. Eier von C. cantans Meig. *a* nat. Größe, *b* 8mal vergr., *c* 16mal vergr., *d* 80mal vergr.

Glasschranke eingeschlossen und mit Orangen und Kirschen gefüttert wurden, um das Legen von Eiern zu erzielen. Es ist uns nie gelungen. Im Gegenteil haben aber Weibchen von C. cantans[1]), welche sich mit Blut vollgesaugt hatten, gelegt, auch in kleinen Probegläschen mit wenig Wasser auf dem Boden.

Bei dieser Gelegenheit konnten wir feststellen, daß die von dieser Art gelegten Eier gar nicht mit den gewöhnlichen Eiern der Culicinae

1) Unsern verbindlichsten Dank an Herrn Prof. Theobald, der so freundlich war, diese Art zu klassifizieren.

übereinstimmen und sich den Stegomyia-Eiern nähern. Das Cantans-Weibchen stellt sich auf das Wasser und legt weißliche, sogleich schwarz werdende, voneinander getrennte Eier, die ungleichmäßig verteilt oder nebeneinander, gleich einem kurzen Bande, deponiert werden. Untersucht man diese $^1/_2$—$^3/_4$ mm langen Eier mikroskopisch, so zeigen sie eine leicht spindelförmige Form; eine Seite ist mehr gebogen als die andere. Das Ei scheint von einer hellen, buckeligen Haut umgeben zu sein, die hauptsächlich an den Rändern zu sehen ist, wo sie eine Reihe Luftkämmerchen zu bilden scheint, die dem Ei das Schwimmen ermöglichen (Fig. 2). Faßt man in der Tat ein solches Ei nicht mit der nötigen Sorgfalt an, so sinkt es auf den Grund. Diese Eier, wie wir schon vorhin sagten und wie man sich an der Figur überzeugen kann, gleichen den Eiern von Stegomyia fasciata sehr. Wir bemerken noch, daß wir am 20. Okt. 1907 (Lufttemp. $+13{,}5^0$, Wassertemp. $+13^0$) ein Eiergelege von A. maculipennis mit winzigen Larven in einem Teiche der Orbeebene fanden.

f) Beobachtungen über culicidenfressende Tiere.

Während wir in der Vernichtung der Culiciden keine guten Resultate mit Rana esculenta und Rana temporaria erzielten, notierten wir, daß Discoglossus pictus Dies. und Bufo variabilis Pall. von Tunesien, in Behälter gebracht, welche Larven und Puppen von Culiciden enthalten, sie diese in großer Zahl auffressen und in dieser Hinsicht den Molchen fast gleichgestellt werden dürfen.

Als Kuriosum sei noch der Verdruß zitiert, den man mit den Experimenten haben kann, wenn eine Spinne in die Schachtel eindringt, in welche man Imagines gebracht hat. In einem Falle hatte eine Spinne mit der größten Geschwindigkeit in allen Ecken feine Netze gesponnen, in die sich die Imagines mit großer Leichtigkeit verfingen, um dann von der Spinne ausgesogen zu werden, die sehr schnell von der einen zur anderen ging[1]).

Lausanne, 28. Okt. 1907.

Die Anatomie eines neuen Fischcestoden.

[Aus der zoologischen Abteilung des Städtischen Museums.]

Von Dr. **Ludwig Cohn**, Bremen.

Mit 4 Figuren.

Im Anfangsteil des Darmes eines Clarias fuscus aus Hongkong fand ich dicht bei einander eine Anzahl von Parasiten, die zum Teil mit dem einen, in die Darmschleimhaut versenkten Ende festsaßen. Schon mit bloßem Auge war das Fehlen einer Gliederung in Proglottiden festzustellen; die nähere Untersuchung ergab, daß weder eine solche, noch auch ein ausgebildeter Skolex vorhanden war. Der gestreckt-lanzettförmige Körper war in ein gleichmäßiges, dünneres Ende ausgezogen,

1) Zur Zeit der Korrektur finden wir in The Journal of Tropical med. 1907. p. 392 die Angabe, daß O'Connell auf die Tatsache aufmerksam macht, daß die Spinnen zur Vernichtung der Mücken beitragen.

das mit einem geringeren Bruchteil seiner Länge in die Schleimhaut versenkt war. Da das Tier aber dabei nach seinem inneren Bau zweifellos einer einzelnen Cestodenproglottis entsprach, so war anzunehmen, daß es sich um eine jener Cestodenarten handelte, die ihre Glieder in mehr oder weniger unreifem Zustande loslösen, worauf sich dann die einzelnen Proglottiden selbständig im Darme weiter entwickeln. Ein Skolex mit dem jüngsten Teile der Kette war nicht zu finden. Wenn daher auch die Beschreibung der Species sowie auch ihre systematische Einordnung nur eine unvollkommene sein kann, entschloß ich mich doch zur Veröffentlichung meines Befundes, da der anatomische Bau nicht nur gewisse unter den Cestoden seltene Eigentümlichkeiten aufwies, sondern auch Charaktere zu gleicher Zeit enthielt, die sonst nur bei verschiedenen Gruppen gefunden werden.

Die Proglottiden müssen sich sehr früh ablösen. Die jüngsten, die ich fand, waren knapp 1,7 mm lang bei 0,16 mm Breite und wiesen noch keine Spur der Genitalanlagen auf. Dementsprechend fehlte auch noch die den reifen Proglottiden eigene Differenzierung der beiden Enden: während sich später die ganze, die Geschlechtsdrüsen enthaltende Hälfte stark verbreitert, ist hier die Proglottis noch in ihrer ganzen Länge gleich breit. Ich fand dies jüngste Stadium frei im Darmschleim, noch nicht an die Wandung angeheftet.

Die Entwickelung der Genitalorgane scheint aber, wenn die Proglottis einmal im Darme frei geworden ist, recht schnell vor sich zu gehen. Solche Proglottiden, die erst 2,3—2,5 mm lang waren (sie saßen bereits an der Wandung fest), waren nicht nur schon von typischer Form, sondern auch bereits in voller Entwickelung begriffen, während sie dann noch weiter bis zur größten mir vorliegende Länge von 8,4 mm wachsen. Fig. 1 stellt ein solches ausgewachsenes Exemplar dar. Die Genitalorgane an dem einen Proglottidenende, die hier auf engstem Raume zusammengedrängt sind, mußte ich zum Teil schematisch nach meiner Rekonstruktion aus Schnitten eintragen, da sich am Totalpräparat die einzelnen Organe auf keine Weise klar darstellen ließen. Die Maße sind: 6,8 mm Länge, größte Breite am verbreiterten Ende 1 mm, am anderen 0,36 mm. Im folgenden will ich die beiden Enden, um die gebräuchlichen Bezeichnungen als Vorder- und Hinterende zu vermeiden, als Haftende und Geschlechtsende bezeichnen.

Die Proglottis besteht aus einem kürzeren, von Geschlechtsdrüsen freien Ende, das sich mit als Haftorgan betätigt und etwa einem Drittel der Totallänge entspricht, und zwei von den Genitalorganen eingenommenen Dritteln. Das Haftende weist keinerlei Differenzierung auf und ist quer abgestutzt; gelegentlich sieht man hier noch Faserreste anhängen, die von der zerrissenen Verbindung mit der benachbarten Proglottis herrühren. Stark entwickelt ist die Muskulatur, was in den vielfachen und kräftigen Einschnürungen des Körpers zur Geltung kommt. Der Cuticula dicht anliegend findet sich eine Längsmuskelschicht von starken, eng aneinander gereihten Fasern, wie ich sie bei einer Hautmuskellage selten zu Gesicht bekam. Auf diese Schicht folgt eine ebenfalls recht starke Ringmuskellage.

Die innere Muskulatur besteht, wie allgemein, aus zwei Längsmuskelschichten und einer Ringmuskellage. Die äußeren Längsmuskeln sind nur schwach entwickelt und bestehen aus einer Serie recht weit voneinander entfernter, dünner Muskelbündel. Ungemein stark hingegen sind die inneren; die breiten Muskelbündel liegen vielfach so dicht beieinander,

daß man stellenweise direkt den Eindruck eines zusammenhängenden Muskelmantels gewinnnen könnte. Aehnlich stark ist die dorsoventrale Parenchymmuskulatur, schwach ausgebildet hingegen die Ringfaserschicht.

Vom Wassergefäßsystem konnte ich, wohl infolge des Kontraktionszustandes, meist nur die beiden weiteren Gefäße (und auch diese nur stellenweise) sehen. Auch vom Nervensystem bekam ich nur die Hauptlängsstämme zu Gesicht; es handelt sich eben um Material aus Fischen, die unaufgeschnitten in Formalin konserviert waren.

Den größten Teil der Proglottis nehmen Hoden und Dotterstöcke ein.

Wie Fig. 1 zeigt, füllen die Hoden das ganze Mittelfeld in mehr als der Hälfte der Proglottidenlänge aus. Aus Fig. 2 ist ersichtlich, daß die sehr zahlreichen Hodenbläschen unregelmäßig gelagert und von verschiedener Größe sind; bald füllt eines das Mittelfeld in dorsoventraler Richtung ganz aus, bald haben hier zwei nebeneinander Platz. An dem dem Genitalende der Proglottis zugekehrten Rande hat das Hodenfeld eine tiefe Einbuchtung, innerhalb deren der männliche ausführende Apparat liegt. Zunächst bildet das dünnwandige Vas efferens ein Konvolut mit meist querliegenden Windungen; dann tritt es in eine etwa kuglige Zone sehr dichten Parenchyms, das nach außen keine scharfe Abgrenzung gegen das umgebende Parenchym hat, aber von sehr vielen dorsoventralen Muskelfasern durchsetzt wird, und bildet hier, immer noch dünnwandig bleibend, weitere Schlingen. Erst das Endstück, das sich geradeaus dorsoventralwärts wendet, zeigt starke, muskulöse Wandung und mündet am Grunde einer auf der Bauchfläche in der Mittellinie gelegenen tiefen und engen Einbuchtung. Ein ausstülpbarer Cirrus ist nicht nachzuweisen. An der Ejakulation sind wohl die letzten, erweiterten Windungen beteiligt, die eine Vesicula seminalis ersetzen.

Eine unter den Cestoden seltene Eigentümlichkeit weist der weibliche Genitalapparat auf, indem nicht ein unpaares Ovarium vorhanden ist, das mehr oder weniger zweiflügelig mit medianem Zwischenstück wäre, sondern zwei ganz gesonderte Ovarien auftreten, die ihre Eier in ein submedianes, querovales Sammelreservoir durch je einen Ausführungsgang entleeren. Die beiden Ovarien sind etwa nierenförmig, bestehen aus einer geringeren Zahl konvergierender Schläuche, und liegen außerhalb der inneren Längsmuskulatur, welche von ihren Ausführungsgängen durchsetzt wird. Bei der ersten Inspektion kann man sie daher leicht für eine Fortsetzung der Dotterstöcke und das Sammelreservoir für das eigentliche Ovarium halten; doch belehrt die typische Zusammensetzung aus Schläuchen und der Zusammenhang mit dem Reservoir bald eines anderen, zumal man im Reservoir nur reife Eier findet. Die Ovarien messen 0,47 : 0,2 mm, das Reservoir 0,23 : 0,13 mm; die hier angesammelten Eier pressen sich polygonal zusammen. Fig. 3 zeigt in einem Querschnitt die betreffenden Verhältnisse der Ovarien. Das Ganze für ein zweiflügeliges Ovarium halten kann man nicht angesichts der Lumendifferenzen zwischen den Ovarien und dem Reservoir einerseits, den relativ engen Ausführungsgängen der Ovarien andererseits.

An der ventralen Seite des Reservoirs, zwischen den Einmündungsstellen der Ovarialgänge, geht der Ovidukt ab, der sich alsbald der seitlich vom Reservoir gelegenen, seitlich von der Mittellinie verschobenen großen Schalendrüse zuwendet; diese ist sehr kompakt aus zahlreichen, großen Zellen gebaut. Vor dem Eintritt in die Schalendrüse nimmt der Ovidukt die Vagina auf.

Die Vagina nimmt ihren Anfang dicht hinter dem männlichen Genitalporus, also ebenfalls median auf der ventralen Fläche. Wie bei jenem, ist auch hier das Atrium eine tiefe, aber schmale trichterförmige

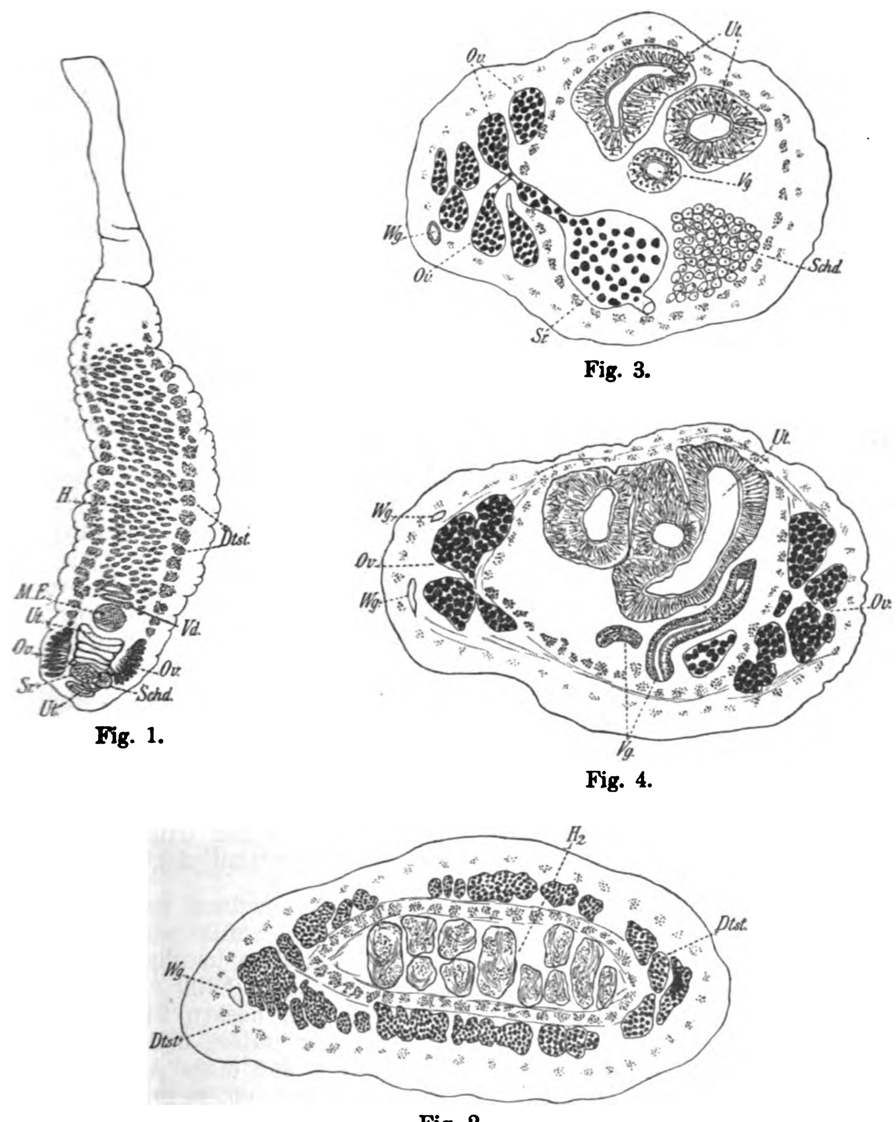


Fig. 3.

Fig. 1.

Fig. 4.

Fig. 2.

Fig. 1. Totalpräparat. Vergr. 24 : 1. *Dtst* Dotterstock. *H* Hoden. *M.E* männlicher Endapparat. *Ov* Ovarium. *Schd* Schalendrüse. *Sr* Sammelreservoir der Ovarien. *Ut* Uterus.

Fig. 2. Querschnitt auf der Höhe des männlichen Drüsenfeldes. Buchstaben wie in Fig. 1. *Wg* Wassergefäß.

Fig. 3. Querschnitt (schief) auf der Höhe des Sammelreservoirs. Buchstaben wie in Fig. 1. *Wg* Wassergefäß.

Fig. 4. Querschnitt zwischen Sammelreservoir und männlichen Endapparat. Buchstaben wie in Fig. 1. *Wg* Wassergefäße.

Einsenkung. Nach kurzem Verlaufe nach der Mittelachse der Proglottis wendet sich die Vagina dem Genitalende zu, verläuft erst eine kurze Strecke geradeaus und setzt ihren Weg dann in überaus starken Windungen fort. Das Endstück vor der Einmündung in den Ovidukt ist auf eine längere Strecke hin verbreitert, wodurch der Mangel eines eigentlichen Receptaculum seminis ersetzt wird. Die Vagina ist in dem mittleren Hauptteile ihrer Länge dünnwandiger als am Anfang und Ende. Um die recht dicke innere Cuticularauskleidung liegt zunächst eine Längsmuskelschicht, auf welche nach außen eine Ringmuskellage folgt. Besonders mächtig sind diese beiden Muskelschichten (und zumal die ringförmige) im medialen erweiterten Abschnitt; hier mag das Sperma durch kräftige peristaltische Bewegung mit Hilfe dieser Muskelschicht mangels eines Receptaculums in den Ovidukt befördert werden. Außen ist die Vagina in ihrem Verlauf von einer einschichtigen Zelllage umgeben. Im mittleren Teile ihres Verlaufes (wo auch die innere Cuticula und die Muskulatur schwächer sind) sind es flache Zellen mit großem Kern, die sich der Peripherie der Vagina anschmiegen. Vom Genitalporus eine Strecke einwärts und insbesondere am stärker muskulösen medialen Abschnitte sind diese Zellen aber sehr hoch; sie machen in ihrer radiären Anordnung bei einer Größe, die dem Gesamtquerschnitt des eigentlichen Vaginalschlauches gleichkommt, durchaus den Eindruck von Drüsenzellen, deren Sekret zur Verdünnung und leichteren Beweglichkeit der Spermamassen dienen mag (Fig. 4).

Nachdem er innerhalb der Schalendrüse eine offene Windung beschrieben, verläßt der Ovidukt die Drüse in der Richtung nach dem Genitalende hin. Den Raum zwischen Proglottidenende und Ovarialreservoir resp. Schalendrüse füllen die ersten Uterusschlingen ganz aus; diese ziehen dann dorsal von den genannten Organen vorüber und steigen dann in eng aneinander gelagerten Querschlingen bis auf die Höhe des Genitalporus hinauf. Eine Uterusöffnung ist nicht vorhanden. Die Wandung des Uterus ist bei den ersten Schlingen jenseits des Reservoirs außen mit stark abgeflachten Zellen belegt. Sobald sie aber am Reservoir vorübergezogen sind, vergrößert sich der Querschnitt der Schlingen bedeutend, und zugleich gehen die flachen Außenzellen in eine Lage hoher, radiär zum Lumen angeordneter Zellen über, die den Uterus dann bis zu seinen letzten Schlingen begleiten. Die Eier sind derbschalig und messen 0,073 : 0,04 mm.

Als Lühe[1]) den Urogonoporus armatus beschrieb, wies er selbst auf die Möglichkeit hin, daß es sich in jenem Falle um frühzeitig losgelöste Proglottiden eines Cestoden handelte, dessen Skolex wegen seiner geringen Größe oder wegen schneller Maceration nicht auffindbar gewesen sei. Odhner[2]) gelang der Nachweis, daß diese Annahme, die einzelnen Parasiten entsprächen isolierten Proglottiden, richtig sei, indem er die Identität mit Trilocularia gracilis Olsson feststellte. Er schreibt in seinen Schlußfolgerungen: „Zum Schluß möchte ich meine Ueberzeugung dahin aussprechen, daß es sich mit der Zeit herausstellen wird, daß auch andere Cestoden, die, wie z. B. die Wagenerien, bis jetzt nur in einzelnen, einer Tetraphyllidenproglottis ähnlichen Individuen be-

1) Lühe, M., Urogonoporus armatus etc. (Arch. de Parasitol. T. V. 1902.)
2) Odhner, Th., Urogonoporus armatus Lühe, 1902, die reifen Proglottiden von Trilocularia gracilis Olsson, 1869. (Arch. de Parasitol. T. VIII. 1904. p. 465/471.)

kannt sind, ebenfalls von Tetraphyllidenskolices abstammen, aber, wie ‚Urogonoporus', befähigt sind, längere Zeit einzeln zu leben." Indem ich mich dieser Ansicht anschließe, betrachte ich, wie aus meiner Beschreibung schon hervorgeht, den hier besprochenen Parasiten als früh losgelöste und frei zur Reifung gelangende Proglottis eines Cestoden. Ich würde kurzer Hand gesagt haben, es sei die Proglottis eines Tetraphylliden, wenn nicht in der Diagnose dieser Ordnung bei Braun[1]) auch die stets seitliche Mündung von Cirrus und Vagina angeführt würde; hier münden beide ja flächenständig! In allen übrigen Hauptcharakteren stimmt der Cestode aber mit der Diagnose eines Tetraphylliden überein, wenn auch Abweichungen von allen bisher aufgestellten Genera nachzuweisen sind; daß die Dotterstöcke im Rindenfeld einen zusammenhängenden Ring bilden, ist meines Erachtens gegenüber dem üblichen Verhalten bei Tetraphylliden von geringerer Bedeutung, da man diesen Dotterring auf die Verschmelzung zweier halbkreisförmiger, wie sie etwa bei Phyllobothrium vorhanden sind, zurückführen könnte. Nur die Gesamtkonfiguration des Genitalapparates ergibt, daß wir für die vorliegende Art ein neues Genus aufstellen müssen, das ich denn Lytocestus nennen will; die Species nenne ich Lytocestus adhaerens n. sp., mit dem Speciesnamen auf das recht feste Haften der einzelnen Proglottiden vermittels des versenkten Endes hinweisend.

Die Diagnose des Genus würde also lauten:

Lytocestus n. gen. Skolex unbekannt. Frühe Loslösung der Proglottiden, keine Differenzierung an deren Haftende. Keine präformierte Uterusöffnung; ♂ und ♀ Genitalporus hintereinander, flächenständig. Hoden zahlreich in der Markschicht; Ovarium zweiteilig mit medianem Reservoir, Dotterstöcke in der Rindenschicht, ringförmig, Schalendrüse neben dem Ovarialreservoir. Im Darme von Fischen.

Typische Art: Lytocestus adhaerens Cohn.

Bremen, 18. Okt. 1907.

Ist die erworbene Immunität vererbbar?

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der Universität zu Kolozsvár (Direktor: Prof. v. Lőte).]

Von Privatdozenten Dr. **Daniel Konrádi**, Assistenten am Institute.

(Schluß.)

Das erste Tier, welches zu diesen Zwecken immunisiert wurde, war eine Hündin von 10 kg Körpergewicht, welche vom 26. Februar 1906 bis den 11. März vom fixen Virus die entsprechenden Verdünnungen subkutan erhielt. 4 Tage nach Beendigung der Immunisierung war das Tier etwas traurig, sogar auch mürrisch, und nahm kaum etwas Futter zu sich. Dieser Zustand dauerte 3 Tage lang, wonach das Tier wieder ganz normal war. 24 Tage nach Beendigung der Immunisierung warf die Hündin 6 Junge, von denen eines an einem Unfall vor der Zeit zu Grunde ging, die anderen 5 aber entwickelten sich sehr schön, wie dies

1) Braun, M., Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Vermes. Ib. p. 1698.



auch aus dem Gang ihres wöchentlich bestimmten Körpergewichts zu ersehen ist. Zur leichteren Uebersicht sollen sie einzeln erwähnt werden:

Hündchen No. I.

Körpergewicht	im	Alter	von	Wochen	g
Körpergewicht	im	Alter	von	4 Wochen	1700 g
„	„	„	„	5 „	2200 „
„	„	„	„	6 „	2250 „
„	„	„	„	7 „	2350 „
„	„	„	„	8 „	2500 „
„	„	„	„	9 „	3350 „

In diesem Alter erhielt es 2 ccm Virus fixe-Emulsion in die lange Rückenmuskulatur neben der Wirbelsäule. 9 Tage nach der Infektion wurde es wütend und ging innerhalb 24 Stunden an Lyssa zu Grunde. Dieses Resultat war nicht überraschend, ich sah sogar die Erfahrung von Ehrlich bestätigt, daß im Alter von 9 Wochen keine Immunität mehr vorhanden ist. Man konnte aber auch daran denken, daß die Probedosis vielleicht von allzu großer Virulenz war, und zwar desto eher, weil ja aus den Untersuchungen von Tizzoni und Centanni schon bekannt war, daß man die ersten Probeinokulationen der Jungen mit nicht allzu kräftigem Virus ausführen soll. Diese Dosis ist aber nicht nur von großer Virulenz, sondern auch zu groß, da z. B. Nitsch die Dosis letalis minima des fixen Virus für 0,001 mg fand (dies bezieht sich aber für die subdurale Infektion). Daher injizierte ich den folgenden Jungen eine etwas kleinere Dosis, die aber groß genug war, um die Tiere töten zu können.

Hündchen No. II.

Körpergewicht	im	Alter	von	Wochen	g
Körpergewicht	im	Alter	von	4 Wochen	1700 g
„	„	„	„	6 „	2150 „
„	„	„	„	8 „	2550 „
„	„	„	„	10 „	3600 „
„	„	„	„	11 „	4000 „

In diesem Alter wurde es, wie das vorige, aber mit 1,0 ccm fixen Virus infiziert. Es blieb gesund, hingegen gingen die zur Kontrolle mit demselben Virus inokulierten 3 Hunde und ein Kaninchen unter den typischen Erscheinungen der Wut innerhalb 8—10 Tagen zu Grunde.

Hündchen No. III.

Körpergewicht	im	Alter	von	Wochen	g
Körpergewicht	im	Alter	von	4 Wochen	1600 g
„	„	„	„	5 „	2050 „
„	„	„	„	10 „	3000 „
„	„	„	„	14 „	5400 „

Es bekommt in gleicher Weise dieselbe Dosis wie das vorige. Es blieb ohne Erscheinungen. Die Kontrolltiere erlagen in 8 Tagen.

Hündchen No. IV.

Körpergewicht	im	Alter	von	Wochen	g
Körpergewicht	im	Alter	von	4 Wochen	1450 g
„	„	„	„	6 „	1850 „
„	„	„	„	10 „	2150 „
„	„	„	„	14 „	3000 „
„	„	„	„	18 „	4000 „

Wird mit derselben Dosis und in derselben Weise infiziert. Es blieb auch gesund, während die Kontrolltiere an typischer Lyssa zu Grunde gingen.

Nach diesen überraschenden Ergebnissen mußte ich auch daran denken, daß vielleicht diese Jungen nur deshalb am Leben blieben, weil das fixe Virus nach subkutaner Verabreichung schwer oder gar nicht zu infizieren im stande ist, und nach den Untersuchungen von Marx und besonders von Nitsch ein Hauptunterschied zwischen dem fixen und Straßenvirus gerade darin besteht, daß das Straßenvirus eher nach subkutaner, das fixe aber nach subduraler Inokulation sicher infiziert. Daher wurde das Hündchen No. V subdural geimpft.

Hündchen No. V.

Körpergewicht im Alter von	4 Wochen	1200 g
" " " "	8 "	1800 "
" " " "	12 "	3700 "
" " " "	16 "	5000 "
" " " "	22 "	7500 "

Es erhielt vom fixen Virus subdural so viel als die 3 Kontrolltiere. **Nach dieser schweren und bis jetzt in allen Fällen als sicher erwiesenen Infektion blieb es dennoch am Leben,** während die Kontrolltiere zu Grunde gingen.

Diese Ergebnisse waren sehr überraschend, da man in der diesbezüglichen Literatur sichere Angaben über eine so langdauernde vererbte Immunität nicht finden kann. Aus den Angaben über die Vererbung der Pockenimmunität, welche auf die Beobachtungen von Burchard und Chambrelent und Zagari sich stützen, und welchen Vaillard und auch Stäubli in ihren Mitteilungen kurz Erwähnung tun, kann man nur so viel entnehmen, daß häufig eine Frau, die während der Gravidität mit Erfolg vacciniert worden ist, einem Kinde das Leben schenkt, das gegenüber dem Vaccin unempfindlich ist. Auch die Untersuchungen von Tizzoni und Centanni und diejenigen von Högyes geben keine sicheren Anhaltspunkte über eine länger dauernde Immunität, da in diesen Fällen von solchen Deszendenten die Rede war, die eine Probeinokulation schon überstanden hatten, und nach der Meinung von Ehrlich und Hübener gewinnt das zu prüfende Tier durch jede überstandene Einführung von Gift eine aktive Immunität.

Die Richtigkeit einer solchen Annahme kann nicht bestritten werden, obwohl mehrere Erfahrungen bekannt sind, in welchen sich die Nachkommenschaft bei der zweiten Inokulation, die kurz nach der ersten folgte, nicht mehr als giftfest erwies. So z. B. waren in den Untersuchungen von Kleine und Möllers die Jungen bei der ersten Infektion im Alter von 2 resp. 3 Tagen immun, gingen aber zu Grunde nach der zweiten Inokulation, die im Alter von 14 resp. 24 Tagen durchgeführt wurde. Auch in den Untersuchungen von Vaillard finden wir einige hierher gehörige Erfahrungen. So erlagen der Infektion im Alter von 4 Monaten diejenigen Nachkommen, welche dieser im 2-monatlichen Alter widerstanden, gleichfalls ging von den Kaninchen, welche im Alter von 20 Tagen noch giftfest waren, bei der zweiten Infektion das eine im Alter von $2\frac{1}{2}$, das andere in einem von 5 Monaten zu Grunde. Die Untersuchungen von Remlinger zeigen auch diesbezügliche Daten: Das im 1-monatlichen Alter noch giftfeste Meerschweinchen erliegt der zweiten Infektion im Alter von 2 Monaten, gleichfalls gingen die im 40-tägigen Alter zum zweiten Mal infizierten Tiere zu Grunde, welche im Alter von 5 resp. 18 Tagen bei der ersten Inokulation noch immun waren.

Wie auch diese Erfahrungen beweisen, kann die jetzt erwähnte Ansicht von Ehrlich und Hübener nicht als eine allgemeine Regel angesehen werden, obwohl die erste Probeinfektion einen gewissen Einfluß auf die Dauer der Immunität haben kann, dieselbe aber kaum auf längere Zeit hinausschiebt. Auch zur Klärung dieser Frage schienen diese Hündchen geeignet. Ich impfte dieselben aber erst nach 1 Jahre zum zweiten Male, und zwar das Hündchen No. V, welches, wie wir sahen, im Alter von 22 Wochen der subduralen Infektion mit Virus fixe widerstand, intramuskulär mit Straßenvirus neben der Wirbelsäule. Es blieb am Leben und lebt auch heute noch 7 Monate nach der zweiten Infektion, während die in gleicher Weise inokulierten Kaninchen und Meerschweinchen binnen 20—24 Tagen an Lyssa zu Grunde gingen.

Zwei andere Hündchen dieser Kategorie wurden subdural infiziert, auch mit Straßenvirus. Auch diese blieben am Leben, obwohl sie mit einem sicheren Virus infiziert wurden. Der Hund nämlich, mit dessen Mark die Inokulation geschah, hat zwei andere Hunde gebissen, von welchen der eine nach 25, der andere nach 55 Tagen der Straßenwut erlag, gleichfalls bekamen die Wut die subdural infizierten Kaninchen und Meerschweinchen.

Diese Ergebnisse sind auch deshalb auffällig, weil zwei andere Hunde, welche mit der Mutter dieser Jungen zur gleichen Zeit, auf dieselbe Weise, mit demselben fixen Virus immunisiert wurden, 3 Monate nach Beendigung der Immunisierung nach subduraler Infektion der Wut erlagen. Also ihre künstlich erworbene aktive Immunität war von kürzerer Dauer als die ererbte der Jungen.

Es drängt sich die Frage auf: Wie kann man diese langdauernde Giftfestigkeit erklären? Zum leichteren Verstehen dieser Frage ist es notwendig, zu wissen, daß die Trächtigkeit beim Hunde 58—65 Tage dauert. Es trat also die Konzeption bei dieser Hündin Anfang Februar 1906 ein. Sie war demnach seit 3 Wochen trächtig von einem gesunden, nicht immunisierten Hunde, als ihre Immunisierung am 26. Februar 1906 begann. Es hat also weder das Spermatozoon noch die Eizelle eine Rolle bei der Uebertragung der Immunität, und wenn die Jungen dennoch giftfest sind, so haben sie diese Eigenschaft entweder intrauterin erworben, oder es wurden die Schutzstoffe nach der Geburt mit der Milch übertragen.

Welcher von diesen zwei Faktoren könnte bei dem Zustandekommen dieser Immunität die größte Rolle gespielt haben? Man könnte annehmen, daß die während der Immunisierung im mütterlichen Organismus gebildeten rabiziden Substanzen die Placenta passierten, oder aber, daß nicht nur die fertigen Schutzstoffe, sondern auch das ihre Produktion bedingende und in langsam sich vermehrender Quantität eingeführte Virus selbst durch die Placenta in den Organismus der Föten übertragen wurde, und wie der mütterliche Organismus, so auch der fötale sich eine aktive Immunität erworben hat und mit dieser geboren wurde. Und dies könnte man um so eher annehmen, weil, wie wir sahen, das Muttertier am Ende der Immunisierung einen leichten Wutanfall durchgemacht hatte. Ich glaube, diese lange Immunität der Jungen auf diese Weise erklären zu können, denn die mit der Milch eingelangten Schutzstoffe können wenig Anteil daran gehabt haben.

Wie kann man aber den Tod des ersten Hündchens erklären? Ich

glaube, die Ursache könnte einerseits durch die Größe und Virulenz der infizierenden Dosis, andererseits durch das jugendliche Alter des Tieres erklärt werden, schließlich könnte die individuelle Eigenschaft auch eine Rolle dabei spielen.

Es soll noch erwähnt werden, daß dieses Muttertier 6 Monate nach Beendigung seiner Immunisierung (September 1906) einer Probeinfektion unterworfen wurde, und zwar mit fixem Virus subdural. 10 Tage nach dieser Infektion ist das Tier krank: Es ist traurig, die Augen sind glänzend, die Pupillen weit, sein Gang ist unsicher, es sinkt zu Boden. Am 11. Tage ist es ganz gelähmt, nimmt kein Futter zu sich, am 12. Tage lag es fast leblos da, wir erwarteten jeden Augenblick seinen Tod. Am 13. Tage besserte sich aber sein Zustand, es erhebt den Kopf und dreht ihn rechts und links, ist freundlicher, kriecht vor dem unangenehmen Wetter in seinen Käfig, nimmt auch wenig Futter zu sich. Am 14. Tage kam es schon ohne Hilfe die Treppe herunter und es war in seinen Bewegungen kaum eine Unsicherheit bemerkbar, schließlich genas es vollkommen.

Die Mutter erwarb sich also während ihrer Immunisierung eine geringere Immunität als ihre Jungen, weil der V. von diesen, welcher in gleicher Weise infiziert wurde, im Alter von beinahe 6 Monaten nicht einmal krank wurde. Geschieht vielleicht die Produktion der Antikörper im jungen Organismus energischer?

In einer II. Untersuchungsreihe wollte ich die Giftfestigkeit solcher Nachkommen prüfen, deren Eltern sich ihre Immunität schon vor der Konzeption erworben haben. Aus diesem Grunde wurde das schon oben erwähnte Muttertier, welches lyssaimmun war, im Januar 1907 mit einem ebenfalls immunen Männchen zusammengebracht.

Dieses Männchen erwarb sich seine Immunität nach der Immunisierungsmethode von Högyes im September 1902. Bei der ersten und zweiten Probeinfektion im November 1902, resp. im Juni 1903 war das Tier nach der subduralen Inokulation mit Virus fixe einige Tage hindurch krank, genas aber und widerstand bei der dritten Inokulation im April 1905 der subduralen Infektion ohne Folgen.

Der Vater erwarb sich also seine Immunität $3^1/_2$ Jahre, die Mutter hingegen 5 Monate vor der Konzeption. Beide Eltern sind im Mai 1907 noch giftfest.

Von diesen immunen Eltern bekamen wir am 23. März 1907 sechs Junge. Alle sind Männchen. Die Inokulation dieser geschah in folgender Reihenfolge:

Erstes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 3 Wochen 1000 g
" " " " 5 " 1650 "
" " " " 7 " 2350 "

In diesem Alter wurde es mit 1,0 ccm einer aus dem Marke eines an Straßenwut zu Grunde gegangenen Hundes verfertigten Emulsion intramuskulär neben der Wirbelsäule infiziert. 30 Tage nach der Infektion bekam das Tierchen die Wut und ging nach 5 Tagen daran zu Grunde. (Befund von Negri-Körperchen, Tierexperiment positiv.)

Zweites Hündchen.

Körpergewicht	im	Alter	von	3	Wochen	850 g
„	„	„	„	5	„	1250 „
„	„	„	„	7	„	1850 „
„	„	„	„	8	„	2200 „

Es wird am 27. Mai 1907 mit Straßenwut in der gleichen Weise mit der gleichen Dosis, wie das obige infiziert. Es blieb am Leben und lebt heute noch. Das zur Kontrolle subkutan infizierte Meerschweinchen und Kaninchen erlag der Wut nach 16, resp. 21 Tagen.

Drittes Hündchen.

Körpergewicht	im	Alter	von	3	Wochen	1000 g
„	„	„	„	5	„	1500 „
„	„	„	„	7	„	2300 „
„	„	„	„	12	„	5050 „

Wird mit Straßenwut in der gleichen Weise infiziert. 24 Tage nach der Inokulation erkrankte das Tierchen unter den typischen Erscheinungen der Wut und geht in 48 Stunden zu Grunde. (Befund von Negri-Körperchen, Tierexperiment positiv.)

Viertes Hündchen.

Körpergewicht	im	Alter	von	3	Wochen	900 g
„	„	„	„	5	„	1400 „
„	„	„	„	7	„	2000 „
„	„	„	„	16	„	5700 „

Probeinfektion mit Straßenwut in der obigen Weise am 13. Juli 1907. Es blieb am Leben und lebt heute noch. Das subkutan infizierte Kontrollmeerschweinchen und -Kaninchen bekam die Wut nach 18 resp. 25 Tagen.

Fünftes Hündchen.

Körpergewicht	im	Alter	von	3	Wochen	800 g
„	„	„	„	6	„	1500 „
„	„	„	„	15	„	3950 „
„	„	„	„	25	„	5200 „

Es bekommt am 11. September 1907 intramuskulär 1,0 ccm Markemulsion aus einem an Straßenwut zu Grunde gegangenen Pferde. Das Tier lebt noch, hingegen gingen alle Kontrolltiere an typischer Wut ein, und zwar ein subkutan infiziertes Meerschweinchen, ein intramuskulär inokulierter Hund nach 12, ein in gleicher Weise geimpftes Kaninchen nach 14 Tagen.

Sechstes Hündchen.

Körpergewicht	im	Alter	von	3	Wochen	900 g
„	„	„	„	6	„	1950 „
„	„	„	„	13	„	4000 „
„	„	„	„	27	„	8000 „

Es wird mit Straßenvirus subdural infiziert am 25. September 1907. Das Tier lebt noch[1]), ist ganz munter, hingegen erlag der zur Kontrolle intramuskulär geimpfte Hund nach 15 Tagen der typischen Hundswut.

---

1) Diese Hündchen sind bei der Revision der Korrektur (Anfang Januar 1908) noch am Leben.

Wie die Ergebnisse der II. Untersuchungsreihe beweisen, können die Nachkommen solche Eigenschaften vererben, welche die Eltern eine geraume Zeit vor der Konzeption sich erworben haben. Eine solche Vererbung kann aber nicht als eine allgemeine Regel betrachtet werden, denn die Jungen ein und desselben Wurfes zeigen kein gleiches Verhalten, manche vererben eine solche Eigenschaft, andere nicht. Ob diese individuelle Verschiedenheit im Sinne von Dzierzgowski, daß nämlich bezüglich der Uebertragungsfähigkeit der Immunität die antitoxische Kraft der Follikelflüssigkeit eine verschiedene ist, erklärt werden könne, oder aber andere noch unbekannte Ursachen hat, bleibt eine offene Frage, daß aber solche individuelle Verschiedenheiten vorkommen, beweisen sehr viele Erfahrungen.

Bei der Besprechung dieser Ergebnisse soll noch kurz erwähnt werden, ob hier von einer echten Vererbung, oder aber nur von einer Uebertragung gesprochen werden darf. Nach Ziegler „sind von der echten Vererbung diejenigen Fälle zu trennen, in welchen eine Schädigung der Keimzellen durch Gifte oder dergleichen stattgefunden hat". Als Beispiele erwähnt Ziegler die chronische Vergiftung mit Alkohol, Phosphor, Blei u. dergl., welche eine schädliche Einwirkung auf die Keimzellen und somit auf die junge Generation haben können. Bei Martius finden wir folgendes: „Als ererbt versteht die Biologie nur solche Eigenschaften, die als Anlagen im Keimplasma der elterlichen Geschlechtsdrüsen enthalten waren. Angeboren ist dagegen alles, was zur Zeit der Geburt im Individuum vorhanden ist. Intrauterine Erwerbungen sind post partum als angeborene zu bezeichnen, nicht als ererbt."

Die Ergebnisse der II. Untersuchungsreihe können aber nicht in die Kategorie der Zieglerschen Beispiele gezählt werden, da hier von solchen Eigenschaften die Rede ist, welche die Eltern noch vor der Konzeption erworben haben und welche ohne Schädlichkeit auf das Keimplasma waren. In diesem Sinne betrachte ich die Ergebnisse der I. Versuchsreihe als angeboren, diejenigen der II. aber als ererbte Immunität.

Ich weise in dieser Beziehung auch auf die Meinung von Roth hin: „Es existiert zwischen Wachstum, erworbenen Eigenschaften und lokalen Krankheiten kein essentieller, sondern nur ein gradueller Unterschied" ... „Die Reproduktionsorgane sind das feinste Reagens auf Aenderungen des Organismus jeglicher Art: Jede noch so minimale Aenderung an der Peripherie ist im stande, auf dem Wege veränderter Zirkulationsverhältnisse die Keime in spezifischer Weise zu alterieren, eine Verschiebung der Molekularstruktur derselben herbeizuführen, die, wenn sie hochgradiger wird, sich als Disposition der Nachkommen geltend macht" ... „Bestimmend ist die durch die Vorgänge an der Peripherie bedingte Aenderung der Zirkulationsverhältnisse und Alteration der Säftemischung: Je hochgradiger und anhaltender dieselbe, um so spezifischer wird auch die Reaktion des Keimplasmas sein; in zweiter Linie ist bestimmend der Zustand des anderen Erzeugers." Diese Meinung finden wir schon 1885 bei Virchow: „Jede erbliche Varietät ist auf eine Causa externa, d. h. eine Veränderung der Lebensbedingungen zurückzuführen, wobei es belanglos ist, ob die letztere auf das Ei, oder auf das wachsende oder fertige Individuum einwirkt." Auch Klebs, Sanson und Bouchard

behandeln in ihren Lehr- und Handbüchern die Vererbung in diesem Sinne.

In einer III. Untersuchungsreihe prüfte ich die Giftfestigkeit solcher Nachkommen, deren Vater eine erworbene, die Mutter aber eine angeborene Immunität hatte. Von solchen Eltern bekamen wir am 11. August 1907 6 Junge, von denen aber eines wegen eines Unfalls zu Grunde ging. Diese wurden in folgender Reihenfolge infiziert:

Hündchen No. I.

Körpergewicht im Alter von 30 Tagen 1000 g. Wird mit Straßenvirus intramuskulär infiziert. Es bekommt 0,5 ccm Markemulsion. Nach 15 Tagen Tod unter den typischen Erscheinungen der Lyssa.

Hündchen No. II.

Körpergewicht im Alter von 43 Tagen 1500 g. Wird mit Straßenvirus intramuskulär infiziert. Dosis, wie bei I. Tod an Lyssa nach 10 Tagen.

Hündchen No. III.

Körpergewicht im Alter von 45 Tagen 2000 g. Wird mit Straßenvirus intramuskulär infiziert. Tod an Lyssa nach 13 Tagen. Positiver Befund von Negri-Körperchen bei allen dreien.

Die anderen 2 Hündchen werden erst später infiziert.

Diese Versuche sind noch nicht abgeschlossen, so viel kann man aber schon jetzt sagen, daß die Enkel keine Immunität vererben, auch dann nicht, wenn der Vater eine aktive Immunität besaß.

Ueber weitere diesbezügliche Untersuchungen, über die Widerstandskraft solcher Nachkommen, welche von einem immunisierten Vater und einer nicht immunisierten Mutter stammen, über das rabizide Vermögen der Jungen mit angeborener Immunität soll in einer späteren Mitteilung die Rede sein.

Literatur.

Abel, Ueber die Schutzkraft des Serums von Diphtherierekonvaleszenten und gesunden Individuen. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 48 u. 50.)
Achard, Action agglutinante du lait etc. (La sem. méd. 1896. p. 303.)
Anderson, Maternal transmission of immunity etc. (Ref. Bull. Pasteur. 1906. p. 1009.)
Assareto, Ricerche sul grasso nella placenta. (Ref. Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVIII. 1907. p. 443.)
Babes u. Talasescu, Etudes sur la rage. L'immunité héréditaire. (Ann. Pasteur. T. VIII. 1904. p. 444.)
Bertarelli, Ueber den Durchgang der hämolytischen Ambozeptoren und der Präzipitine in der Milch etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 767.)
De Blasi, Ueber die Passage der Antikörper in die Milch etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. 1905. p. 353.)
v. Behring, Diphtherie. (Biblioth. v. Koler-Schjerning. Bd. II.)
van Bemmelen, Die Erblichkeit erworbener Eigenschaften. (Biolog. Centralbl. Bd. X. 1890. p. 641.) Daselbst ausführliche Literatur.
Bouchard, L'hérédité de l'immunité. (Pathologie générale. T. I. p. 374.)
Burchard u. Chambrelent, zitiert bei Vaillard.
Castaigne, zitiert bei Schumacher.
Chambrelent u. Philippe, J., zitiert bei Schumacher.
Charrier u. Apert, zitiert bei Schumacher.
Dagliotti, zitiert bei Schumacher.

Dieudonné, Die Bedeutung der Vererbung der Agglutinine etc. (Festschr. d. phys.-med. Gesellsch. Würzburg 1899.)
Dietrich, Die Bedeutung der Vererbung für die Pathologie. (Ref. Centralbl. f. Stoffwechsel. Bd. III. 1902. p. 522.)
Dzierzgowski, Zur Frage der Vererbung von der künstlichen antidiphtheritischen Immunität. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 881.)
— —, Sur l'hérédite de l'immunité artificielle etc. (Ref. Bull. Pasteur. 1904. p. 41.)
Effertz, Tuberkulose, Traumatismen, Syphilis unter den tropischen Indianern. Ein Beitrag zur Lehre der hereditären Immunisierung. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 5.)
Ehrlich, Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd.XII. 1892. Heft 2.)
Ehrlich u. Hübener, Ueber die Vererbung der Immunität bei Tetanus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. p. 51.)
Ehrlich u. Wassermann, Ueber die Gewinnung der Diphtherieantitoxine aus Blutserum und Milch immunisierter Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. p. 231.)
Emery, Gedanken zur Deszendenz- und Vererbungstheorie. (Biolog. Centralbl. Bd. XIII. 1893. p. 397.)
Etienne, zitiert bei Schumacher.
Figari, Sul passagio delle agglutinine etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd.XXXIX. p. 75.)
Griffon u. Abrami, Transmission par l'allaitement etc. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd. XXXIX. p. 499.)
Hamburger, Assimilation und Vererbung. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 1.)
Högyes, L'immunité artificielle contre la rage est-elle héréditaire? (Ann. Pasteur. T. III. 1889. p. 434.)
Jehle, Ueber die Agglutinationskraft . . . in Föten etc. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 20.)
Jurewitsch, Ueber den vererbten und intrauterinen Uebergang der agglutinierenden Eigenschaften etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 76.)
Kassowitz, Allg. Biol. Bd. II.
Kasel u. Mann, Beiträge zur Lehre von der Gruber-Widalschen Serumdiagnose etc. (Münch. med. Wochenschr. 1899. p. 584.)
Klebs, Allg. Pathol. 1887. p. 46.
Kleine u. Möllers, Ueber ererbte Immunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LV. 1906. p. 779.)
Lagriffoul u. Pagès, Sur le passage de l'agglutinine etc. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Referate. Bd. XXXV. 1904. p. 123.)
Lannelongue u. Achard, Sur le passage de la propriété agglutination etc. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. p. 255.)
Landouzy et Griffon, Transmission par allaitement du pouvoir agglutination. (Comp. rend. de la soc. de biol. 1897. p. 950.)
Lustig, Ist die für Gifte erworbene Immunität übertragbar? (Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. XV. 1904. p. 210 u. 756.)
Magni, Sulla trasmissibilita di alcuni alterazione renali etc. (Ref. Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. XVIII. 1907. p. 448.)
Martius, Ueber die Bedeutung der Vererbung und der Disposition in der Pathologie. (22. Kongr. f. inner. Med. in Wiesbaden. 1905. Ref. Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 473. Diskussion über diese Frage daselbst.)
Marx, Lyssaimmunität. (Handb. d. path. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. Bd. IV. p. 1264.)
Merkel, Ueber die Vererbung der Präzipitinreaktion. (Münch. med. Wochenschr. Bd. LI. 1904. p. 329.)
Morgenroth, Die Vererbungsfrage in der Immunitätslehre. (Handb. d. path. Mikroorganismen. v. Kolle-Wassermann. Bd. IV. p. 784.)
Mossé u. Dennie, Séroréaction chez l'enfant etc. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 8.)
Nitsch, Expériences sur la rage. I—V partie. Cracovie 1904—05.
Panichi, Contributio sperimentale alla conoscenza della eredita etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Referate. Bd. XXXIX. p. 661.)
Le Play u. Corpechot, Action des nephrolysines. Hérédité des lésiones. (Ref. Bull. Pasteur. 1904. p. 346.)
Polano, Der Antitoxinübergang von der Mutter auf das Kind. (Zeitschr. f. Geburtshilfe u. Gynäkol. Bd. LIII. p. 456.)
v. Rath, Vererbung von Verletzungen. (Biol. Centralbl. Bd. XIII. 1893. p. 65.)

Remlinger, Contribution expérim. à l'étude de la transmission hérédit. de l'immunité etc. (Ann. Past. T. XIII p. 129.)
Ribbert, Lehrbuch der allgemeinen Pathologie. 1901. p. 8.
Römer, Untersuchungen über die intrauterine und extrauterine Antitoxinübertragung etc. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 46.)
Roth, Ueber den gegenwärtigen Stand der Frage der Vererbung erworbener Eigenschaften und Krankheiten. (Wien. Klinik. Bd. XVI. 1890. p. 181.)
Roux, Entstehungsmöglichkeit der „dauernden" Immunität. (Vorträge u. Aufsätze über Entwickelungsmechanik der Organismen. Leipzig 1905. p. 263.)
Sanson, L'hédérité normale et pathologique. 1893.
Salomonsen u. Madsen, Recherches sur la marche de l'immunité active etc. (Ann. Pasteur. 1906. p. 315.)
Scholtz, Beiträge zur Serodiagnostik etc. (Hyg. Rundsch. 1898. p. 423.)
Schumacher, Beitrag zur Frage des Ueberganges der im Serum . . . enthaltenen Agglutinine etc. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901. p. 323.)
Schütz, Die placentare Uebertragung der natürlichen Immunität. (Berl. klin. Wochenschrift 1905. No. 40.)
— —, Ueber denselben Gegenstand. (Jahrb. f. Kinderheilkde. Bd. LXI. 1905.)
Stäubli, Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidung der Typhusagglutinine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. p. 375.)
— —, Zur Frage des Ueberganges der Typhusagglutinine etc. (Ibid. p. 458.)
— —, Ueber die Bildung der Typhusagglutinine etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 291.)
— —, Ueber das Verhalten der Typhusagglutinine im mütterlichen und fötalen Organismus. (Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 798.)
Strassburger, Die stofflichen Grundlagen der Vererbung. Jena (G. Fischer) 1905.
Sommer, R., Familienforschung und Vererbungslehre. Leipzig 1907.
Tizzoni u. Cattani, Sulla trasmissione ereditarià dell'immunita etc. (In deutscher Sprache in der Deutsch. med. Wochenschr. 1902. No. 18.)
Tizzoni u. Centanni, Die Vererbung der Immunität gegen Rabies von dem Vater auf das Kind. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XIII. p. 81.)
La Torre, Weitere Untersuchungen über den Uebergang der Antikörper ins Blut der Säuglinge . . . (Ref. Centralbl. f. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels. 1906. p. 158.)
Vaillard, Sur quelques points concernant etc. (Ann. Pasteur. T. VI. p. 224.)
— —, Sur l'hérédité de l'immunité acquise. (Ibid. T. X. p. 65.)
Vaillard et Rouget, Contribution à l'étude du tétanos. (Ibid. T. X. p. 432.)
Virchow, Deszendenz und Pathologie. 1885.
Wernicke, Ueber die Vererbung der künstlich erzeugten Diphtherieimmunität etc. (Festschr. z. 100-jähr. Stiftungsfeier d. med.-chirurg. Friedr. Wilhelm Intsit. Berlin. p. 525.)
Wilckens, Die Vererbung erworbener Eigenschaften etc. (Biolog. Centralbl. Bd. XIII. p. 420.)
Widal u. Sicard, Transmission de la substance agglutinante typhique par l'allaitement. (Sem. méd. 1897. p. 282.)
Wlaeff, Transmission de l'immunité. (Ref. Bull. Pasteur. 1904. p. 743.)
Zagari, zitiert bei Stäubli.
Ziegler, Ueber den derzeitigen Stand der Vererbungslehre in der Zoologie. Jena (Gustav Fischer) 1905.
— —, Die Vererbungslehre in der Biologie. Jena (Gustav Fischer) 1905.

Nachdruck verboten.

Das Tuberkulin.

[Aus dem Reichsseruminstitut zu Rotterdam (Direktor: Dr. J. Poels).]

Von **Hendrik E. Reeser.**

(Schluß.)

Bartels[1]) bemerkt über die Angewöhnung an das Tuberkulin, daß das Ausbleiben der Reaktion nach einer kurz vorher gemachten ersten Injektion nicht so konstant ist, als man gewöhnlich annimmt, denn von 768 geimpften Ochsen reagierten nach 8 Tage 165 wieder. Er beobachtete ferner, daß, wenn er die Tiere, welche nicht reagiert hatten, zwischen der 1. und 2. Injektion kaltes Wasser aufnehmen ließ, die Temperatur ± 1° C fiel. Diese Temperaturverminderung fehlte bei den Tieren, welche eine Reaktion gezeigt hatten.

Zupnik[2]) stellte interessante Versuche über die Tuberkulinreaktion an, und fand unter anderem, daß von 12 mit anderen säurefesten Bacillen eingespritzten Tieren 6 reagierten. Daß es sich nicht nur um eine Knötchenreaktion handelte, bewies das negative Resultat bei einer großen Anzahl anderer knötchenerregender Bakterien. Es ist zwar seiner Meinung nach eine spezifische Reaktion, aber er sagt nicht, worin sie besteht.

Pickert[3]) erkennt den Wert des Tuberkulins als Diagnostikum, aber er rät, das Mittel nur in den dringendsten Fällen zu verwenden, weil die Größe der Reaktion nie im voraus zu bestimmen ist und die klinische Untersuchung meistens genügt.

Nocard und Leclainche[4]) geben die Bereitungsweise folgendermaßen an: Glycerinierte Bouillonkulturen werden 6 Wochen lang im Brutkasten bei 38—39° C gehalten, dann bei 110° C im Autoklaven sterilisiert, darauf im luftleeren Raum über Schwefelsäure oder auf dem Wasserbade eingedickt, bis die Flüssigkeit bis auf $^1/_{10}$ ihres ursprünglichen Volumens reduziert ist, dann filtriert und in geschlossener Flasche an einem kühlen Orte und im Dunkeln aufbewahrt.

Marmorek[5]) hält das Tuberkulin an und für sich nicht für die direkte Ursache der Tuberkelreaktion. Das Tuberkulin wirkt auf die Bacillen ein und veranlaßt diese, ein ganz anderes Gift auszuscheiden. Die lokale Reaktion entsteht durch die Anhäufung der in den tuberkulösen Herden neugebildeten Toxinen und die allgemeine Reaktion durch die Aufnahme dieser Toxine in die Blutbahn. Die Ursache der Reaktion ist also seiner Ansicht nach ein unter der Einwirkung des Tuberkulins von den Bacillen ausgeschiedenes Gift. Durch diese spezifische Wirkung des Tuberkulins auf die Bacillen wird sogar der verborgenste tuberkulöse Herd gefunden. Die jungen Bacillen mit ihren sehr dünnen Wachs- und Fetthüllen hält er für die Giftbildner.

---

1) Bartels, Ein Beitrag zur Frage der Angewöhnung an das Tuberkulin. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1902. No. 29.)

2) Zupnik, L., Ueber die Tuberkulinreaktion. (Deutsch. Archiv f. klin. Med. Bd. LXXV. 1903.)

3) Pickert, Ueber den Wert der Tuberkulindiagnostik für die Lungenheilstätten. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 1903. p. 50.)

4) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. 1903.

5) Marmorek, Antituberkuloseserum und Vaccin. (Berliner klin. Wochenschr. 1903. No. 48.)

Kanda[1]) vergleicht die aus Menschen- und Tiertuberkelbacillen bereiteten Tuberkuline miteinander. Nach der Behauptung Kochs reagieren tuberkulöse Rinder ebenso wohl nach Injektionen mit Tuberkulin aus Rindertuberkelbacillen, als solchem aus Menschentuberkelbacillen. Meistens wird aber für die Diagnose für Rindertuberkulose Tuberkulin aus Menschentuberkelbacillen benutzt, und der diagnostische Wert dieses Tuberkulins wird allgemein anerkannt, aber weil die Virulenz der beiden Sorten von Tuberkelbacillen eine verschiedene ist, kann man auch auf einen Unterschied der beiden Tuberkuline rechnen. Die Rindertuberkelbacillen werden aus tuberkulösen Herden auf Meerschweinchen verimpft und die Menschentuberkelbacillen aus Sputum ebenfalls auf Meerschweinchen. Dann werden die Bacillen auf 5-proz. Glycerinbouillon gezüchtet. Das Wachstum der Bacillen aus Rindertuberkeln ist schwächer als dasjenige der Menschentuberkelbacillen. Nach 4—5 Wochen wird die Glycerinbouillon auf dem Wasserbad bis auf $^1/_{10}$ eingeengt, dann abfiltriert und mit 0,5-proz. Karbolwasser vermischt. Auf diese Weise werden 2 Sorten von Tuberkulin, das Tuberkulin der Rindertuberkelbacillen (R-Tuberkulin) und das Tuberkulin der Menschentuberkelbacillen (M-Tuberkulin), gewonnen.

Aus den von ihm mitgeteilten Temperaturtafeln geht hervor, daß, wenn Tuberkulose vorhanden ist, die Temperatur bei der R-Tuberkulineinspritzung nach 6—8 Stunden eine deutliche Erhöhung bewirkt, welche nach 12 Stunden ihr Maximum erreicht, während bei Verwendung des M-Tuberkulins die Wärmezunahme erst nach 10—12 Stunden deutlich wird und nach 16—18 Stunden den höchsten Grad erreicht. Die ganze Reaktion verläuft also 4—6 Stunden schneller. Bei der intravenösen Injektion tritt die Steigerung der Temperatur viel schneller als bei der subkutanen ein, und hier ist der Unterschied zwischen R- und M-Tuberkulin auch am deutlichsten. Den Versuchsrindern wurden 0,3 ccm Tuberkulin in die Halsvene mit dem Resultat eingespritzt, daß bei der Verwendung des R-Tuberkulins schon nach 4 Stunden eine schnelle Steigerung der Temperatur eintrat, welche nach 6—8 Stunden ihren Höhepunkt erreichte, während die Reaktion beim Gebrauche des M-Tuberkulins 2—4 Stunden später auftritt, etwas schwächer verläuft und 0,5—1° C weniger beträgt. Auf Grund seiner Versuche kommt er zu dem Schlusse, daß 0,3 ccm R-Tuberkulin gleichwertig ist mit 0,5 ccm M-Tuberkulin. Er kommt zu folgenden Schlüssen:

1) Das R-Tuberkulin ist zur Diagnostik der Tuberkulose der Rinder zweckmäßiger und zuverlässiger als das M-Tuberkulin.

2) Die Reaktion ist bei dem R-Tuberkulin viel stärker und tritt schneller ein als bei M-Tuberkulin.

3) Die intravenöse Einspritzung verdient den Vorzug, weil die Reaktion hier schon nach 6—8 Stunden ihr Maximum erreicht.

Arloing[2]) beschreibt die Störungen, welche durch Tuberkulinimpfungen bei tuberkulösen Individuen verursacht werden, und faßt seine Beobachtungen folgendermaßen zusammen:

1) Emulsionen von Kochschen Bacillen, menschlichen oder tierischen Ursprungs, verursachen, wenn sie in das Blut von tuberkulösen Kranken

---

1) Kanda, Vergleichende Studien über die Tuberkuline von Menschen- und Rindertuberkelbacillen bei der Diagnose der Rindertuberkulose. [Japanische Publikat. Sept. 1903.] (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVII.)

2) Arloing, Des troubles déterminés sur des sujets tuberculisés par des injections de tuberculine. (Journal de physiol. et de pathol. génér. T. IV. 1903. No. 4.)

injiziert werden, Störungen in den Hauptfunktionen, welche innerhalb 24 Stunden den Tod herbeiführen können (Lungenödem, Herzschwäche).

2) Bei dem Tuberkulin entsteht nur Steigerung der Temperatur, bei der Emulsion gleichzeitig auch eine oder mehrere Störungen in den Hauptfunktionen.

3) Die Wirkung des Tuberkulins verläuft schneller als die der Emulsion, während die tuberkulösen Tiere sich schneller an das Tuberkulin als an die Emulsionen gewöhnen.

Freymuth[1]) spricht über die Verwendung des Tuberkulins bei Lungenkranken. Trotz der Kochschen Erklärung vom Jahre 1890, daß das Tuberkulin vom Magen aus nicht seine volle Wirkung entfalten könne, verabreicht er doch seinen Patienten das Tuberkulin per os zur Verhütung der unangenehmen Folgen der subkutanen Injektion. Er läßt Dosen von 5—80 mg in Kapseln nehmen, und erzielte ähnliche Reaktionen, wie bei den subkutanen Injektionen.

Es ist von Interesse, daß Patienten, die nach der Verwendung per os nur sehr wenig reagierten, eine sehr starke Reaktion bei subkutaner Injektion aufwiesen. Es scheint also, daß die interne Behandlung die Empfänglichkeit für die subkutane Einspritzung erhöht.

Witt[2]) bekämpft die Ansicht Bartels, daß die Angewöhnung an das Tuberkulin oft nicht zu stande kommt. Bei 10 doppeltgeimpften Tieren trat nur bei einem Fieber zum zweiten Male auf.

Kopralik und v. Schrötter[3]) haben das Tuberkulin auf dem Wege des Respirationskanals dem Körper einverleibt. Sie fanden, daß auch auf diese Weise die Kochsche Reaktion hervorgerufen wird. Die zu diesem Verfahren benötigte Dosis beträgt bei aktiver Tuberkulose ± 30 mg, bei inaktiver oder geschlossener Tuberkulose ± 250 mg. Auf diesem Wege kann also ihrer Ansicht nach der Begriff des „Tuberkuloseverdachtes“ bestimmter definiert werden.

Loewenstein und Rappaport[4]) kommen auf Grund von 389 Versuchen zu dem Schlusse, daß mit dem Fortschritt der Krankheit die Größe der kleinsten Reaktionsdosen abnimmt, d. h. daß der Körper für Tuberkulose empfänglicher wird.

Freymuth[5]) spricht noch einmal über die Tuberkulinanwendung per os. Wenn der Magensaft durch Natriumbikarbonat wirkungslos gemacht wird, tritt ganz bestimmt eine Reaktion ein, welche zwar schwächer und unsicherer als diejenige der Injektionen ist, aber von den unangenehmen Nebenwirkungen, welche man bei der subkutanen Injektion beobachtet, frei bleibt. Er fand, daß bei starker Reaktion per os die Tuberkulineinspritzung gleichfalls eine starke Reaktion hervorruft. Die Form, in der das Tuberkulin verabreicht wird, ist: „Natrium bicarb. keratinierte Tuberkulinpille.“

---

1) Freymuth, Sitzungen der Abteilung für innere Medicin auf 76. Versammlung der deutschen Naturforscher und Aerzte in Breslau.

2) Witt, G., Die Tuberkulinimpfung. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1904. No. 31.)

3) Kopralik und v. Schrötter, Erfahrungen über die Wirkung der Einführung von Tuberkulin im Wege des Respirationsapparates. (Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 22.)

4) Loewenstein, Ernst und Rappaport, Ueber den Mechanismus der Tuberkulinimmunität. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 23.)

5) Freymuth, Ueber Anwendung von Tuberkelpräparaten per os. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 2.)



Feststellung einheitlicher Grundsätze für die Beurteilung der Tuberkulinreaktion[1]):

1) Die Herstellung und Abgabe des Tuberkulins ist unter die Aufsicht des Staates zu stellen.

2) Nur solche Rinder sind der Tuberkulinprobe zu unterwerfen, deren Körpertemperatur zur Zeit der Injektion 39,5° C nicht übersteigt.

3) Bei allen Rindern, welche zur Zeit der Tuberkulineinspritzung keine 39,5° C übersteigende Temperatur aufweisen, ist jede 40° C übersteigende Erhöhung der Körpertemperatur als positive Reaktion zu betrachten.

4) Alle Temperaturerhöhungen über 39,5—40° C sind als zweifelhafte Reaktion zusammenzufassen und für sich zu beurteilen.

Malm[2]) kommt durch zahlreiche Versuche zu dem Schlusse, daß bei gewissenhaften Untersuchungen sich bei den zu diagnostischen Zwecken gemachten Injektionen nur 1—2 Proz. Fehlergebnisse ergeben, und nicht, wie man behauptet, 10—40 Proz. Er hält es für rätlich, jede 2 oder 3 Stunden die Temperatur abzunehmen.

Carini[3]) meint, daß man in der Praxis auch bei sorgfältiger Vornahme der Tuberkulineinspritzung auf 17 Proz. Fehlergebnisse zu rechnen habe. Er vertritt die Ansicht, daß ein reagierendes Tier immer tuberkulös ist; andere Krankheiten ergeben keine Reaktion, einen kleinen Herd übersieht man bei der Sektion leicht. Anders verhält es sich bei Tieren, die keine Reaktion gezeigt haben und doch tuberkulös sind (allgemeine Tuberkulose, verkalkter Herd); dieses letztere kommt, wie aus den Tabellen ersichtlich ist, ziemlich häufig vor.

Bereitung des Tuberkulins im Institut zu Rotterdam.

Als Kulturmedium für die Tuberkelbacillen wird die Glycerinkartoffelbouillon verwendet, deren Bereitungsweise einigermaßen von der bisher üblichen abweicht und in folgender Weise geschieht: Geschälte Kartoffeln, aus denen man auch die Augen sorgfältig entfernt hat, werden in sehr dünne Scheibchen zerschnitten und in Wasser, das fortwährend erneuert wird, einen Tag lang gehalten, darauf läßt man sie eine Nacht über in destilliertem Wasser stehen. Am folgenden Tage gießt man das Wasser ab und sterilisiert die Scheibchen $^3/_4$ Stunde lang im Autoklaven ($1^1/_2$ Atmosphären), begießt sie dann mit z. B. 3 Liter destilliertem Wasser, sterilisiert wieder aufs neue und läßt die Scheibchen in den Gläsern einen Tag lang stehen. Sind auf diese Weise die dünnen Kartoffelscheibchen gut ausgezogen, dann filtriert man sie ab und hebt das Kartoffelwasser (in casu 3 Liter) auf. In der Hackmaschine werden $1^1/_2$ kg Kalbsbeefsteak zerkleinert, die 3 Liter Kartoffelwasser daraufgegossen, das Gemisch eine Nacht lang maceriert, im Sommer in den Eisschrank gestellt. Am folgenden Morgen koliert man die Mischung durch ein leinenes Tuch und gießt Wasser bis zum Auffüllen zu den 3 Litern hinzu. Diese Flüssigkeit bringt man während 10 Minuten zum Aufkochen, filtriert sie dann durch ein Flanelltuch und fügt 1 Proz. Pepton

---

1) Beschlüsse des 8. Internationalen tierärztlichen Kongresses zu Budapest vom 3. bis 9. Sept. 1905.)

2) Malm, Der Kampf gegen die Tuberkulose in Norwegen. (Norsk Veterinär Tidsskrift. Bd. XV.)

3) Carini, A., Fehlergebnisse der Tuberkulinprobe beim Rindvieh. (Archiv f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXXII. Heft 6.)

und $^1/_2$ Proz. NaCl, welches man zuvor mit einer kleinen Menge heißer Flüssigkeit angerührt hat, und 5 Proz. Glycerin hinzu. Mit einer Normallösung von Natriumkarbonat wird diese Bouillon zuerst neutralisiert und dann noch von dieser Flüssigkeit ein Ueberschuß von 3 ccm per Liter hinzugefügt, wodurch sie leicht alkalisch gemacht wird. Als Indikator benutzte man bis jetzt Lackmuspapier, aber da dasselbe den großen Nachteil hat, die Uebergangsschattierungen von rot und blau kaum hervortreten zu lassen, so ist es besser, einen anderen Indikator zu nehmen. Aus den diesbezüglichen Versuchen geht hervor, daß die beste Reaktion für Kartoffelbouillon so eine ist, bei der eine Mischung von 5 ccm von der Bouillon mit einigen Tropfen einer verdünnten alkoholischen Phenolphthaleinelösung durch 0,4 ccm einer Normallösung von Natriumkarbonat schwach rot gefärbt wird. Die so gewonnene Glycerinkartoffelbouillon muß sterilisiert werden, was nicht zu rasch geschehen darf, da es oft vorgekommen ist, daß ein von Kartoffeln herrührender Bacillus nach einer 1-stündigen Sterilisierung noch lebensfähig bleibt; eine 2-stündige Sterilisierung scheint aber genügend zu sein. Will man die Bouillon vollständig durchsichtig haben, so ist ein nochmaliges Filtrieren empfehlenswert; am besten geschieht dieses durch Filtrierpapier oder durch Flanell. Der Nährboden ist nun für die Bacillen fertig und muß nun in Kolben gebracht werden. Für diese Kolben werden die sogenannte „Flacons de Roux" gebraucht, das sind flache Schalen, die für die Praxis am zweckmäßigsten sind, wenn die Bodenfläche $5^1/_2 \times 11^1/_2$ cm groß ist und wenn sie 22 cm hoch sind. Am oberen Ende befindet sich ein 3 cm langer Hals von 3 cm Durchmesser. Diese Rouxschen Flaschen haben den großen Vorteil, daß die Tuberkelbacillen sich über eine große Oberfläche verbreiten und in vollem Maße den Sauerstoff der Luft aufnehmen können; daß obendrein die Quantität Bouillon im Verhältnis zu der großen Oberflächenkultur gering ist, was die Wirksamkeit des Tuberkulins befördert. Bevor diese Kolben mit Bouillon gefüllt werden, müssen sie mit Wattepfropfen geschlossen, geraume Zeit sterilisiert worden sein (am besten kann das in dem Trockenschrank geschehen). Nun wird jede Rouxsche Flasche mit 200 g Kartoffelbouillon gefüllt, diese Quantität genügt gerade, um den Boden, wenn die Flasche horizontal liegt, mit einer Schicht Bouillon zu bedecken, ohne jedoch den Wattepfropfen am Halse des Gefäßes zu befeuchten. Sind alle Kolben nun auf diese Weise gefüllt, so werden die Wattepfropfen mit Kappen von Filtrierpapier bekleidet und die Flaschen werden darauf wieder sterilisiert, und zwar 2 Stunden lang bei 100° C. Die abgekühlten Kolben sind nun für die Impfung fertig und wie es sich aus der 4. Mitteilung Kochs herausgestellt hat, benutzte er bei dieser Impfung die von ihm beobachtete Eigenschaft der Tuberkelbacillen, daß einzelne platte Stückchen Kultur, die auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit schwammen, sich üppig darauf entwickelten, so daß sie endlich die ganze Oberfläche mit einer Haut bedeckten, die immer dicker wurde. Solch ein plattes Stückchen Kultur bekommt man am leichtesten, wenn man eines jener Häutchen nimmt, die sich unten im Glas an der Oberfläche des Glycerins bilden, wenn eine Kartoffelkultur von Tuberkelbacillen einige Wochen alt ist. Es wird nun nach Entfernung der Kartoffel mit einer langen Platinnadel von dem Glycerin weggenommen und möglichst schnell auf die Oberfläche der Glycerinkartoffelbouillon gebracht. Hat man auf diese Weise nach einigen Wochen eine Haut ge-

wonnen, so kann die Impfung von dieser Haut ausgehen, ohne daß man jedesmal zu der Kartoffelkultur zurückzukehren braucht.

Bei der Impfung der Rouxschen Flaschen und der jedesmaligen Ueberimpfung der Tuberkelbacillen ist es empfehlenswert, daß ein Assistent jedesmal die Wattepfropfen entfernt und daß man sich einer ± 20 cm langen, etwas gebogenen Platinnadel bedient, damit man der Gefahr nicht ausgesetzt ist, mit dem Ende des Platindrahthalters in die Flüssigkeit zu gelangen.

Es kann nicht genug hervorgehoben werden, daß es bei der Impfung von der größten Wichtigkeit ist, keine Stammkolben mit einer zu dicken Haut zu nehmen, da man bei der Ueberimpfung von dicken Häuten nur mit der größten Mühe ein kleines Stückchen ablösen kann, das in dem neuen Kölbchen sich hauptsächlich in die Dicke entwickelt und sich nicht so schnell über die Oberfläche verbreitet. Wenn man aber einen Kolben mit einer 1—3 Wochen alten Haut nimmt, so hat man die Schwierigkeit nicht, weil die Uebertragung von einer solchen Haut äußerst leicht ist; eine ziemlich große, dünne Haut bildet sich in dem neuen Kölbchen, die sich schnell über die ganze Oberfläche legt. Obschon die Tuberkulinpräparate, welche aus den Menschentuberkelbacillenkulturen bereitet sind, im allgemeinen ausgezeichnet zur Diagnostik der Rindertuberkulose angewendet werden können, scheint es aber doch näher zu liegen, sich zur Herstellung des Tuberkulins eines Rinderbacillus zu bedienen, auch im Einklang mit den Kandaschen Untersuchungen, aus denen hervorging, daß das Tuberkulin aus Rinderbacillen zur Diagnostik der Rindertuderkulose weit zweckmäßiger und zuverlässiger ist, als das aus Menschenbacillen bereitete.

Die leichteste Methode für die Ueberimpfung der Tuberkelbacillen, welche auch in der Praxis die wenigsten Verunreinigungen gibt, ist wohl folgende:

Mit der gehörig ausgeglühten, langen, etwas gebogenen Platinnadel wird, nachdem der Assistent mit Daumen und Zeigefinger der rechten Hand den Wattepfropfen von dem horizontal liegenden Stammkölbchen entfernt hat, ein Häutchen von der Oberfläche genommen, und während der Assistent in dieser Zeit mit dem kleinen Finger und der flachen rechten Hand auch den Wattepfropfen des zu impfenden Kölbchens entfernt hat, wird das Häutchen schnell auf die Oberfläche des neuen Kölbchens gebracht. Schnell werden nun wieder von dem Assistenten die Wattepfropfen auf beide Kölbchen gebracht und abgebrannt. Auf diese Weise kann man von demselben Kölbchen eine beliebige Zahl andere impfen, ohne daß das Stammkölbchen verunreinigt zu werden braucht. Der große, mit diesem Verfahren verbundene Vorteil ist, daß der Weg des Impfhäutchens durch die Luft möglichst kurz ist, wodurch man die Gefahr der Verunreinigung sehr vermindert, indem durch die Fertigkeit, welche man bei der Impfung erwirbt, die Zeit, während welcher die Kölbchen ohne Wattepfropfen sind, äußerst kurz ist. Weiter muß darauf hingewiesen werden, daß, je weniger Staub in dem Lokal, in dem man arbeitet, vorkommt, je weniger man sich in demselben hin und her bewegt, um so weniger Verunreinigungen man zu befürchten hat. Schließlich muß hier noch einmal und nachdrücklich hervorgehoben werden, daß bei der Uebertragung solcher Häutchen immer die peinlichste Reinlichkeit beobachtet werden muß, denn davon hängt einzig und allein die Ausbeute des Tuberkulins ab, das ausschließlich aus reinen Kölbchen gewonnen werden darf.

Die auf die oben beschriebene Weise geimpften Kölbchen werden vorsichtig, ohne daß die Wattepfropfen befeuchtet werden, in den Brutschrank gestellt und man läßt sie 6—8 Wochen darin bei einer Temperatur von 37—38° C wachsen. In den ersten Tagen ist an den Häutchen wenig wahrzunehmen, sie verbreiten sich nur etwas mehr über die Oberfläche, als ob sie auseinander gezogen würden; nach 3 oder 4 Tagen ist aber gewöhnlich Wachstum zu sehen, sie werden größer und größer, bis endlich die ganze Oberfläche mit einer dünnen, durchsichtigen Haut bedeckt ist, in der hier und da dickere, weiße Inselchen sich zeigen (nach Verlauf von 2 Wochen hat sich gewöhnlich solch eine Haut gebildet). Letztere wird allmählich dicker und dicker, sie nimmt eine weißlich-gelbe Farbe an und legt sich in Falten; endlich fallen ganze Stücke von solchen dicken Häuten auf den Boden; aber so weit läßt man es bei der Tuberkulingewinnung nicht kommen, da dies in den meisten Fällen erst nach 8 Wochen geschieht. Die Bouillon unter der Haut bleibt, wenn sorgfältig verfahren wird, bei diesem Wachstum völlig durchsichtig; wird sie trübe, was dann fast immer im Verlauf der 3—4 ersten Tage geschieht, so sind andere Mikroorganismen in die Flüssigkeit gelangt, und dergleichen Kulturen sind zur Tuberkulinherstellung nicht brauchbar. Wenn nach Verlauf von 6—8 Wochen die Rouxschen Flaschen aus dem Brutapparat genommen werden, kontrolliert man sie, ob alle ein genügendes Wachstum aufweisen, oder ob vielleicht noch verunreinigte sich darunter befinden; gibt es solche, dann werden sie entfernt. Die gut gewachsenen Kölbchen haben einen eigentümlichen Geruch, der wohl schon mit Veilchenduft verglichen wurde. Die Kölbchen werden nun vertikal gestellt, wobei man die Häute in der Flüssigkeit schütteln muß und 2 Stunden lang auf 100° C erwärmt, um die Tuberkelbacillen abzutöten. Ist dies geschehen, dann wird die Bouillon mit den Kulturhäuten aus den Kölbchen in eine große, gläserne Schale gebracht und auf dem Wasserbade bis auf $^1/_{10}$ ihres Volumens eingedampft; die Bacillen werden nun abfiltriert und die auf diese Weise gewonnene dunkelbraune, dicke, sirupartige Flüssigkeit ist die sogenannte „tuberculine brûte“ = rohes Tuberkulin. Sie enthält 50 Proz. Glycerin, was ein Bakterienwachstum ausschließt. Kulturen aus mehrere Monate aufbewahrtem, nichtsterilisiertem Tuberkulin bleiben stets steril.

Mit dem auf diese Weise gewonnenen Tuberkulin wurden 951 Rinder geimpft. Um eine gute Uebersicht über die Anzahl der Fehlergebnisse zu gewinnen und um festzustellen, bei welcher Art der Reaktion sie am meisten auftraten, habe ich die Befunde in 4 Gruppen vereinigt, und zwar die Gruppe der Reaktionen bis zu 41° und höher, die Gruppe der Reaktionen zwischen 40 und 41° C, die Gruppe der Reaktionen zwischen 39,5 und 40° und endlich diejenigen der Fälle, bei welchen die Temperatur unter 39,5° C blieb.

Für erwachsene Rinder wurde eine mit 4 g $^1/_2$-proz. Karbolwasser verdünnte Dosis von 350 mg gebraucht; für jüngere Tiere wurde die Dosis bis auf 100—200 mg vermindert.

Die Nocardschen Vorschriften in Bezug auf die Dosis, denen das Institut Pasteur folgt, sind folgende:

a)	Für Stiere und Ochsen gewöhnlicher Größe	0,400 g
b)	„ Kühe gewöhnlicher Größe	0,350 „
c)	„ Kühe mittlerer Größe	0,300 „
d)	„ Färsen oder Stiere 1—2 Jahre alt	0,200 „
e)	„ Kälber	0,100 „

Aus den mit den erhaltenen Resultaten aufgestellten Reaktions- und Sektionsberichten folgte, daß von den 951 eingespritzten Rindern 304 reagierten bis zu 41° C und höher; bei 6 von jenen 304 konnte bei der Sektion keine Tuberkulose nachgewiesen werden, mit anderen Worten, dabei waren ± 2 Proz. Fehlergebnisse.

Von den 532 Rindern, die zwischen 40—41° reagierten, waren 89 Fehlergebnisse, also ± 16 Proz.

Weiter ergab sich, daß von den 91 Rindern mit einer Reaktion zwischen 39,5 und 40° C 35 oder 38 Proz. nicht tuberkulös waren, indem in denjenigen Fällen, wo die Temperatur unter 39,5° C blieb, 54 Proz. Fehlergebnisse waren.

Faßt man nun diese Resultate zusammen, so kommt man zu dem Ergebnis, daß, je stärker die thermische Reaktion ausfällt, um so kleiner die Wahrscheinlichkeit ist, daß diese Reaktion nicht mit den Sektionserscheinungen übereinstimmen wird.

Für die Bereitung des Tuberkulins im großen, wie sie oben ausführlich mitgeteilt ist, besteht eine große Schwierigkeit. Durch das fortwährende Ueberimpfen gewöhnen sich die Tuberkelbacillen an das Wachsen auf diesen Nährböden, die Häutchen breiten sich schneller über die ganze Oberfläche aus und werden immer dicker und nach der Einengung der Flüssigkeit auf $^1/_{10}$ bleibt schließlich ein sehr dicker Brei übrig, und um daraus das Tuberkulin zu gewinnen, hat man bei der Abfiltrierung der Bacillen eine Menge von Schwierigkeiten zu beseitigen; es geht äußerst langsam und die Ausbeute ist demzufolge sehr gering. Auf vielerlei Weise haben wir die Filtrierung versucht, aber ohne Erfolg.

Aus den oben mitgeteilten Resultaten geht hervor, daß man es mit einer großen Anzahl von Fehlergebnissen zu tun hat. Die Vermutung liegt auch sehr nahe, daß durch die langdauernde Auswaschung, die die Tuberkelbacillen bei der Eindampfung der Kulturflüssigkeit auf $^1/_{10}$ erleiden, Stoffe aus den Bacillen gezogen werden, die in vielen Fällen die Temperatur auch bei nicht tuberkulösen Krankheiten erhöhen. Man bekommt außer dem spezifisch wirksamen noch andere toxische Stoffe aus den Bacillen, die man lieber nicht hätte. Das mühsame Abfiltrieren, die geringe Ausbeute und die große Zahl der Fehlergebnisse sind Schwierigkeiten von solcher Tragweite, daß ich mich entschloß, die Bacillen vor der Einengung der Kulturflüssigkeit abzufiltrieren und erst dann letztere auf $^1/_{10}$ zu reduzieren.

Nach Sterilisation wird also die Kulturflüssigkeit durch Filtrierpapier abfiltriert, die Bacillen werden also entfernt, und das auf diese Weise gewonnene, vollständig durchsichtige Filtrat wird auf einem Wasserbade bis auf $^1/_{10}$ seines ursprünglichen Volumens eingedampft, was je nach der Quantität der einzudampfenden Flüssigkeit mehrere Stunden dauern kann. Die so erhaltene dicke, bräunlichgelbe Flüssigkeit, die „tuberculine brûte“, ist nun zur Ablieferung fertig, denn da in dieser 50 Proz. Glycerin enthaltenden Flüssigkeit keine Bakterien leben können, ist Sterilisierung nicht nötig.

Und doch muß noch eine Prozedur mit dem Tuberkulin vorgenommen werden, denn läßt man es einige Wochen stehen, so bildet sich auf dem Boden ein dicker, grauer Niederschlag, und die von dieser „tuberculine brûte“ bereitete „tuberculine diluée“ ist dann trübe. Es handelt sich

also nur darum, eine Methode zu finden, das Tuberkulin völlig rein zu gewinnen und zu behalten, und in der Tat ist es gelungen, diesen Zweck zu erreichen durch die Erhitzung des Tuberkulins, das man vorher einige Wochen lang an einem kühlen und dunkeln Orte aufbewahrt hat. Noch warm wird es zentrifugiert, was im Staatsseruminstitut mit einer Motorzentrifuge von 4000 Drehungen pro Minute 2 Stunden lang geschieht. Unten in den Zentrifugenröhren bildet sich ein dicker, weißlichgelber Niederschlag, der fest an den Röhren klebt und darüber das vollständig durchsichtige Tuberkulin, das sich außerordentlich leicht abgießen läßt und das man monatelang in dazu bestimmten Fläschchen an einem dunklen, kühlen Orte aufbewahren kann.

Die Tuberkulinbereitung ist kurz also in die folgenden Punkte einzuteilen:

Anlegen der Kultur, sterilisieren, Bacillen abfiltrieren, eindampfen, sedimentieren, erhitzen (sterilisieren), zentrifugieren.

Mit dem auf diese Weise gewonnenen Tuberkulin wurden 771 Rinder injiziert. Die Einteilung in die 4 Gruppen, je nach dem Grade der Temperaturerhöhung, wurde auch hier wieder befolgt.

Aus diesen Reaktions- und Sektionsbefunden folgte, das von den 169 Rindern, die eine Reaktion bis zu 41° oder höher gaben, nur 1 keine Tuberkulose bei der Sektion zeigte (± 0,6 Proz.); von den 484 Rindern, welche zwischen 40 und 41° reagierten, hatten 19 (± 4 Proz.) keine Tuberkulose. Von den 100 Rindern, die eine Reaktion zwischen 39,5 und 40° gaben, konnte bei 10 keine Tuberkulose nachgewiesen werden (also 10 Proz.), indem 9 von den 18 Rindern, bei denen die Temperatur nach der Einspritzung unter 39,5° C blieb, tuberkulosefrei waren.

Auch hieraus zieht man sofort den Schluß, *daß je höher die Reaktion ist, desto weniger man Gefahr läuft, ein Fehlergebnis vor sich zu haben.*

Den Ergebnissen der 1. Serie gegenüber kommt aber ein bedeutender Unterschied zum Ausdruck, der am deutlichsten hervortritt, wenn man die Resultate tabellarisch miteinander vergleicht:

Tuberkulin	Fehlergebnisse			
	41° C und höher	40—41° C	39,5—40° C	Reaktion unter 39,5° C
1. Reihe Mit Bacillen eingedampft	2 Proz.	16 Proz.	38 Proz.	54 Proz.
2. Reihe Bacillen vor der Eindampfung abfiltriert	0,6 „	4 „	10 „	50 „

Hieraus geht hervor, daß das Filtrieren der Bouillon vor dem Eindampfen bei weitem den Vorzug verdient, *weil es bei größerer Ausbeute* **die Anzahl der Fehlergebnisse stark vermindert,** denn von den 653 Rindern, welche eine Reaktion *über* 40° C zeigten, konnte bei der Sektion nur bei 20 (± 3 Proz.) keine Tuberkulose nachgewiesen werden (1. Reihe ± 11 Proz.), eine Zahl, welche auch kleiner ist als die, welche andere Autoren (*Eber* spricht von 15 Proz.) angeben. Bei dieser Bereitungsweise scheint die spezifische Wirkung des Tuberkulins stark in den Vordergrund zu treten und die toxische Nebenwirkung auf ein Minimum reduziert zu werden. Durch die lange Auslaugung, der die

Bacillen ausgesetzt sind, wenn sie bei der Eindampfung in der Flüssigkeit verbleiben, treten toxische Körper in die Flüssigkeit über, welche in vielen Fällen die Temperatur bei nichttuberkulösee Tieren zu erhöhen vermögen; indem man die Kulturen vor der Eindampfung abfiltriert, verhindert man diese Auslaugung ziemlich gut. Weiter geht aus diesen Resultaten hervor, daß die Bacillen bei der Eindampfung nicht anwesend zu sein brauchen, der wirksame Stoff scheint schon vor der Eindampfung in die Kulturflüssigkeit übergetreten zu sein, und die Bacillen sollen somit nicht maximal ausgelaugt werden, um gutes, wirksames Tuberkulin zu liefern.

Mit Hinsicht auf die erzielten Resultate wurde nun versucht, die Bacillen vor der Sterilisierung, also lebend, abzufiltrieren und das auf diese Weise gewonnene Tuberkulin auf seine Wirkung zu prüfen. Dieses Verfahren ist aber nicht empfehlenswert; die erhaltene Flüssigkeit wirkt schwächer, so daß bei den meisten eingespritzten Rindern die Temperatur unter 40° C blieb. Die Abtötung der aus dem Brutapparate entfernten Kulturen stellte sich als notwendig heraus, um ein gutes, wirksames Tuberkulin zu bekommen. Die geringe Anzahl von Fehlergebnissen, welche man mit diesem Tuberkulin noch bekommt, kann auf folgenden Ursachen beruhen:

a) auf der Möglichkeit, daß gewisse Rinder eine bestimmte Empfänglichkeit (Idiosynkrasie) für die Tuberkulose besitzen;

b) auf der mangelhaften Sektion,

c) auf der Möglichkeit, daß gewisse Tiere durch außerordentliche Umstände so geschwächt sind, daß sie auf eine Tuberkulineinspritzung eine Reaktion zeigen, welche sie in normalen Verhältnissen nicht zeigen würden.

Tuberkulin aus Vogeltuberkelbacillen.

Oben ist mitgeteilt worden, auf welche Weise Tuberkulin mit Kulturen von Rindertuberkelbacillen gewonnen werden kann. Auf ganz analoge Weise läßt sich das Tuberkulin aus den Kulturen von Vogeltuberkelbacillen bereiten. Die Haut, zu der letztere aber an der Oberfläche der Bouillon auswachsen, ist viel schleimiger als die der Rindertuberkelbacillen und rascher gebildet; zieht man ferner den etwas stärkeren Geruch der Kulturen in Betracht, so hat man den Unterschied zwischen beiden angegeben.

Nach Verlauf von 6 Wochen ist auch hier die ganze Oberfläche mit einer dicken Haut überdeckt und die Bouillon darunter bleibt auch vollständig durchsichtig. Die nach Sterilisierung, Abfiltration bis auf $^1/_{10}$ eingedampfte bräunlichgelbe Flüssigkeit ist in keinerlei Hinsicht vom Tuberculinum bovis zu unterscheiden.

Die Einspritzung dieses „Tuberculinum avium“ = TA bei tuberkulösen Kühen zeigt aber sofort den großen Unterschied zwischen den beiden Sorten.

Als Anfangsdosis wurde 350 mg TA genommen, womit 4 Rinder mit folgendem Resultate eingespritzt wurden.

Rind No. I.

Die Vortemperatur wurde am Morgen, Mittag und Abend des 22. Okt. aufgenommen — sie betrug resp. 38,7, 38,8 und 38,8° C. Die Einspritzung wurde an demselben 22. Okt. abends um 10 Uhr vorgenommen (350 mg TA auf 4 g 1/2-proz. wässerige Karbollösung). Die erste Temperaturmessung wurde am 23. Okt. morgens um 5 Uhr, also 7 Stunden nach der Injektion, vorgenommen.

23. Okt.	morgens	5 Uhr	38,9°		23. Okt.	nachm.	3 Uhr	38,9°
23. „	„	7 „	39°		23. „	„	5 „	39°
23. „	„	9 „	38,9°		23. „	„	7 „	39°
23. „	„	11 „	38,9°		23. „	„	9 „	38,9°
23. „	nachm.	1 „	39,1°					

Aus dieser Temperaturtabelle zeigt es sich, daß das Rind auf die Injektion nicht reagierte und doch ging aus der Sektion hervor, daß Tuberkulose der Lg. retroph., Lg. mesent., der Lungen, Leber, Nieren, Milz, Serosae vorhanden war.

Rind No. II.

Am 22. Okt. wurde die Körpertemperatur gemessen, die am Morgen 38,8° C, am Mittag 38,8° C und am Abend 38,7° C betrug, sofort nach der letzten Temperaturaufnahme wurden 350 mg TA eingespritzt. Am folgenden Tage war die Temperatur:

23. Okt.	morgens	5 Uhr	39,0°		23. Okt.	nachm.	3 Uhr	38,8°
23. „	„	7 „	38,9°		23. „	„	5 „	38,8°
23. „	„	9 „	38,9°		23. „	„	7 „	38,9°
23. „	„	11 „	38,8°		23. „	„	9 „	38,8°
23. „	nachm.	1 „	38,9°					

Trotzdem keine Reaktion auftrat, stellte sich doch bei der Sektion heraus, daß Tuberkulose der Lg. retroph., Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., der Lungen und der Leber bestand.

Rind No. III.

Die am Morgen, Mittag und Abend aufgenommene Körpertemperatur betrug am 22. Okt. 39,4, 39 und 39,2° C; abends 10 Uhr desselben Tages wurden 350 mg TA eingespritzt und 7 Stunden später die erste Temperatur aufgenommen.

23. Okt.	morgens	5 Uhr	39,8°		23. Okt.	nachm.	3 Uhr	38,5°
23. „	„	7 „	39,3°		23. „	„	5 „	38,6°
23. „	„	9 „	39,5°		23. „	„	7 „	39,0°
23. „	„	11 „	39,3°		23. „	„	9 „	39,2°
23. „	nachm.	1 „	38,5°					

Es wurde somit nur schwache Reaktion (0,4° C) festgestellt.

Die Sektion zeigte, daß das Tier an Tuberkulose der Lg. bronch., Lg. mediast. und der Lungen gelitten hatte.

Rind No. IV.

Die Körpertemperatur betrug am 22. Okt. 38,8, 38,9 und 39,1° C; die Tuberkulinimpfung (350 mg TA) geschah am Abend desselben Tages.

23. Okt.	morgens	5 Uhr	38,9°		23. Okt.	nachm.	3 Uhr	38,4°
23. „	„	7 „	39,0°		23. „	„	5 „	38,5°
23. „	„	9 „	38,8°		23. „	„	7 „	38,5°
23. „	„	11 „	38,6°		23. „	„	9 „	38,8°
23. „	nachm.	1 „	38,3°					

Es trat keine Reaktion ein.

Aus der Sektion ging hervor, daß Tuberkulose der Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., der Lungen, Leber, Nieren, Serosae bestand.

Aus diesen 4 Versuchen, bei denen 350 mg TA eingespritzt wurde, zeigt es sich, daß diese Dosis zu gering ist, um eine zuverlässige Reaktion hervorzurufen. Die Quantität wurde also größer genommen und auf 500 mg gebracht, womit 5 Rinder eingespritzt wurden (No. V, VI, VII, VIII und IX).

Rind No. V.

1. Nov. Körperwärme morgens 39,2° C, nachmittags 39,5° C, abends 39,3° C. Am 1. Nov. abends 10 Uhr wurden 500 mg TA eingespritzt.

2. Nov.	5 Uhr	morgens	39,5°	2. Nov.	2 Uhr	nachm.	38,9°
2. „	6 „	„	39,6°	2. „	3 „	„	38,8°
2. „	7 „	„	39,5°	2. „	4 „	„	38,6°
2. „	8 „	„	39,5°	2. „	5 „	„	38,5°
2. „	9 „	„	39,5°	2. „	6 „	„	38,5°
2. „	10 „	„	39,5°	2. „	7 „	„	38,8°
2. „	11 „	„	39,0°	2. „	8 „	„	38,7°
2. „	12 „	„	38,7°	2. „	9 „	„	38,7°
2. „	1 „	nachm.	39,0°	2. „	10 „	„	38,8°

Wiewohl die Morgentemperatur ziemlich hoch genannt werden kann, darf man hier nicht von einer Reaktion reden. Es ging aus der Sektion hervor, daß das Rind nicht an Tuberkulose litt; es konnte bloß eine chronische Bronchopneumonie konstatiert werden.

Rind No. VI.

1. Nov. Körperwärme morgens 38,6° C, nachm. 38,9° C, abends 38,8° C. Am 1. Nov. abends 10 Uhr wurden 500 mg TA eingespritzt.

2. Nov.	5 Uhr	morgens	39,2°	2. Nov.	2 Uhr	nachm.	39,0°
2. „	6 „	„	39,0°	2. „	3 „	„	39,2°
2. „	7 „	„	39,1°	2. „	4 „	„	39,2°
2. „	8 „	„	39,2°	2. „	5 „	„	39,4°
2. „	9 „	„	39,1°	2. „	6 „	„	39,2°
2. „	10 „	„	39,3°	2. „	7 „	„	39,1°
2. „	11 „	„	39,0°	2. „	8 „	„	39,1°
2. „	12 „	„	38,9°	2. „	9 „	„	38,8°
2. „	1 „	nachm.	38,9°	2. „	10 „	„	38,9°

Höchste Temperatur nach der Injektion 39,4° C. Höchste Temperatur vorher 38,9° C (Differenz 0,5° C). Bei der Sektion wurde Tuberkulose der Lg. retroph., Lg. port., Lg. mesent., Lg. supra-mamm., Lg. bronch., Lg. mediast., der Lungen, Nieren, Serosae, Uterus nachgewiesen.

Rind No. VII.

1 Nov. Körperwärme morgens 38,6° C, nachm. 38,8° C, abends 38,6° C. Am 1. Nov. abends 10 Uhr wurden 500 mg TA eingespritzt.

2. Nov.	5 Uhr	morgens	38,9°	2. Nov.	2 Uhr	nachm.	38,8°
2. „	6 „	„	38,8°	2. „	3 „	„	38,6°
2. „	7 „	„	38,9°	2. „	4 „	„	38,6°
2. „	8 „	„	38,7°	2. „	5 „	„	38,8°
2. „	9 „	„	38,8°	2. „	6 „	„	38,9°
2. „	10 „	„	38,9°	2. „	7 „	„	39,0°
2. „	11 „	„	38,8°	2. „	8 „	„	39,2°
2. „	12 „	„	38,8°	2. „	9 „	„	39,1°
2. „	1 „	nachm.	38,7°	2. „	10 „	„	38,9°

Abends stieg die Temperatur bis auf 39,2° C, während die Abendtemperatur vor der Injektion 38,6° C betrug. Eine leichte Temperaturerhöhung ist hier nicht in Abrede zu stellen.

Bei der Sektion stellte es sich heraus, daß die Lg. mesent. tuberkulös waren.

Rind No. VIII.

1. Nov. Körperwärme morgens 39,1° C, nachm. 39,4° C, abends 39,2° C. 10 Uhr abends am 1. Nov. 500 mg TA geimpft.

2. Nov.	5 Uhr	morgens	39,3°	2. Nov.	2 Uhr	nachm.	38,8°
2. „	6 „	„	39,5°	2. „	3 „	„	38,8°
2. „	7 „	„	39,4°	2. „	4 „	„	38,9°
2. „	8 „	„	39,3°	2. „	5 „	„	38,7°
2. „	9 „	„	39,3°	2. „	6 „	„	38,9°
2. „	10 „	„	39,1°	2. „	7 „	„	38,8°
2. „	11 „	„	38,8°	2. „	8 „	„	38,9°
2. „	12 „	„	38,9°	2. „	9 „	„	38,8°
2. „	1 „	nachm.	39,1°	2. „	10 „	„	38,7°

Am Morgen nach der Injektion war die höchste Temperatur 39,5° C; in Hinsicht auf die gewöhnliche Blutwärme kann hier keine Rede von einer Reaktion sein.
Sektion: Tuberkulose der Lg. retroph., Lg. mesent., Lg. supra-mamm., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen, Serosae, Euter, Uterus.

Rind No. IX.

Weil es nicht unmöglich gewesen wäre, daß in den früheren Fällen die Temperatur schon vor der ersten Messung das Maximum erreicht hatte, wurde diesem Rinde um 10 Uhr morgens 500 mg TA eingespritzt und die Temperatur von da an stündlich gemessen. Die Körperwärme betrug vor der Injektion 38,8, 38,9, 39° C.

5. Nov.	11 Uhr	morgens	38,8°	5. Nov.	5 Uhr	nachm.	39,3°
5. „	12 „	„	37,7°	5. „	6 „	„	39,2°
5. „	1 „	nachm.	38,8°	5. „	7 „	„	39,2°
5. „	2 „	„	38,6°	5. „	8 „	„	39,1°
5. „	3 „	„	38,9°	5. „	9 „	„	39,2°
5. „	4 „	„	39,2°	5. „	10 „	„	39,1°

7 Stunden nach der Injektion betrug die Temperatur 39,3° C. Vor dieser Stunde war keine Temperatursteigerung eingetreten.
Sektion: Tuberkulose der Lg. retroph., Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen.

Durch die Einspritzung von 500 mg TA erhält man also ebensowenig eine Reaktion; die Dosis wurde also auf 1 g gesteigert und damit die 2 Rinder No. X und XI behandelt.

Rind No. X.

14. Nov. Körperwärme morgens 38,8° C, mittags 38,6° C, abends 38,9° C. Morgens 5 Uhr am 15. Nov. wurde 1 g TA eingespritzt.

15. Nov.	5 Uhr	morgens	38,8°	15. Nov.	2 Uhr	nachm.	38,8°
15. „	6 „	„	38,6°	15. „	3 „	„	38,9°
15. „	7 „	„	38,6°	15. „	4 „	„	38,9°
15. „	8 „	„	38,4°	15. „	5 „	„	38,9°
15. „	9 „	„	38,5°	15. „	6 „	„	39,0°
15. „	10 „	„	38,4°	15. „	7 „	„	39,1°
15. „	11 „	„	38,5°	15. „	8 „	„	39,3°
15. „	12 „	„	38,7°	15. „	9 „	„	39,3°
15. „	1 „	nachm.	38,7°	15. „	10 „	„	39,1°

Die Temperatur stieg am Abend langsam bis auf 39,3° C. (Differenz 0,4° C).
Sektion: Tuberkulose der Lg. retroph., Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen, Leber, Nieren, Serosae.

Rind XI.

14. Nov. Körperwärme morgens 38,8° C, mittags 38,7° C, abends 38,9° C. Um 5 Uhr morgens am 15. Nov. 1 g TA subkutan eingespritzt.

15. Nov.	5 Uhr	morgens	39,5°	15. Nov.	1 Uhr	nachm.	39,9°
15. „	7 „	„	39,5°	15. „	2 „	„	40,1°
15. „	8 „	„	39,5°	15. „	3 „	„	40,1°
15. „	9 „	„	39,6°	15. „	4 „	„	39,9°
15. „	10 „	„	39,7°	15. „	5 „	„	39,7°
15. „	11 „	„	39,7°	15. „	6 „	„	39,7°
15. „	12 „	„	39,8°				

In diesem Falle wurde zum ersten Mal eine deutliche Reaktion nach der Injektion vorgenommen.
Bei der Sektion zeigte sich Tuberkulose der Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen, Leber, Nieren, Serosae.

Durch die Injektion von 1 g TA erzielte ich also in dem Fall X eine schwache, in dem Fall XI eine Reaktion von über 40°. Mit einer Dosis von $1^1/_2$ g wurden 2 Rinder injiziert (No. XII u. XIII).

Rind XII.

17. Nov. Körperwärme morgens 39,3° C., nachm. 39,3° C., abends 39,4° C. Um 5 Uhr morgens wurde am 18. Nov. $1^{1}/_{2}$ g TA eingespritzt.

18. Nov.	5 Uhr morgens 39,3°	18. Nov.	3 Uhr nachm. 39,1°
18. „	7 „ „ 39,1°	18. „	5 „ „ 39,3°
18. „	9 „ „ 39,3°	18. „	7 „ „ 39,2°
18. „	11 „ „ 38,9°	18. „	9 „ „ 39,3°
18. „	1 „ nachm. 38,4°		

Es trat somit keine Reaktion ein.
Sektion: Lungenemphysem.

Rind XIII.

17. Nov. Körperwärme morgens 38,7° C, nachm. 38,7° C, abends 38,9° C. Um 5 Uhr morgens wurde am 18. Nov. $1^{1}/_{2}$ g TA eingespritzt.

18. Nov.	5 Uhr morgens 38,6°	18. Nov.	3 Uhr nachm. 38,8°
18. „	7 „ „ 38,4°	18. „	5 „ „ 40,3°
18. „	9 „ „ 38,5°	18. „	7 „ „ 40,5°
18. „	11 „ „ 38,5°	18. „	9 „ „ 40,6°
18. „	1 „ nachm. 38,4°	18. „	10 „ „ 40,2°

Reaktion bis zu 40,6° C.
Sektion: Tuberkulose Lg. submax., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen.

Mit der Dosis von $1^{1}/_{2}$ g wurde also ein besseres Resultat gewonnen; Rind No. XII, das nicht reagierte, zeigte bei der Sektion keine Tuberkulose. In Fall No. XIII dagegen erzielte ich eine Reaktion bis auf 40,6° C, und die Sektion ergab eine ziemlich heftige Tuberkulose.

Um die toxische Dosis von TA zu bestimmen, bei der also auch gesunde Rinder reagieren, wurde ein Rind mit 2 g und 2 Rinder mit 3 g geimpft.

Rind XIV.

2. Dez. Körperwärme morgens 38,4° C, nachm. 38,6° C, abends 38,7° C. Um 5 Uhr morgens am 3. Dez. 2 g TA injiziert.

3. Dez.	5 Uhr morgens 38,4°	3. Dez.	3 Uhr nachm. 39,1°
3. „	7 „ „ 38,5°	3. „	5 „ „ 39,6°
3. „	9 „ „ 38,8°	3. „	7 „ „ 40,0°
3. „	11 „ „ 38,9°	3. „	9 „ „ 39,9°
3. „	1 „ nachm. 38,9°	3. „	10 „ „ 39,7°

Wiewohl eine Reaktion bis auf 40° C eintrat, konnte bei der Sektion keine Spur von Tuberkulose entdeckt werden. Nur Lungenemphysem war zugegen.

Rind XV.

5. Dez. Körperwärme morgens 38,9° C, nachm. 39,0° C, abends 39,1° C. Am 5. Dez. morgen 5 Uhr eine Injektion von 3 g TA.

6. Dez.	5 Uhr morgens 38,9°	6. Dez.	3 Uhr nachm. 39,4°
6. „	7 „ „ 39,3°	6. „	5 „ „ 39,8°
6. „	9 „ „ 39,1°	6. „	7 „ „ 40,3°
6. „	11 „ „ 39,1°	6. „	9 „ „ 40,7°
6. „	1 „ nachm. 39,3°	6. „	10 „ „ 40,5°

Obschon durch diese Injektion eine Temperaturerhöhung bis auf 40,7° C eintrat, fand man bei der Sektion nur Echinokokkose der Lungen. Keine Spur von Tuberkulose.

Rind XVI.

7. Dez. Körperwärme morgens 39,0° C, nachm. 39,0° C, abends 39,1° C. Am 8. Dez. morgens 5 Uhr 3 g TA injiziert.

8. Dez.	5 Uhr morgens 39,1°	8. Dez.	3 Uhr nachm. 39,5°
8. „	7 „ „ 39,5°	8. „	5 „ „ 39,7°
8. „	9 „ „ 39,5°	8. „	7 „ „ 36,9°
8. „	11 „ „ 39,4°	8. „	9 „ „ 40,2°
8. „	1 „ nachm. 39,4°	8. „	10 „ „ 39,9°

Trotz der deutlichen Reaktion bis auf 40,2° C zeigte sich bei der Sektion keine einzige anatomische Abnormität.

Aus obigen Versuchen mit Tuberkulin, das aus Kulturen von Vogeltuberkelbacillen bereitet ist, kann man folgende Schlußfolgerungen ziehen:

a) Mit der gewöhnlichen Dosis, 350 mg, bekommt man bei der Anwendung von TA keine nennenswerte Reaktion;

b) eine zuverlässigere erhält man, wenn man die Dosis auf $1\frac{1}{2}$ g erhöht;

c) mit einer Dosis von 2—3 g ist man imstande, auch bei gesunden Tieren eine heftige Reaktion zu veranlassen (toxische Dosis);

d) dieses Tuberkulin ist als Diagnostikum für Tuberkulose beim Rindvieh untauglich.

Anhang.

Daß auch andere Bakterienextrakte das Vermögen besitzen, Temperaturerhöhungen hervorzurufen, geht aus folgendem Versuch hervor:

Eine 3 Tage alte Bouillonkultur von Coli-Bacillen wurde ebenso wie Tuberkulin sterilisiert, abfiltriert und dann bis auf $\frac{1}{10}$ eingedampft. Auf diese Weise wurde eine gelbe, ziemlich dicke Flüssigkeit erhalten, die, was das Aussehen anbetrifft, völlig dem des Tuberkulin gleicht. Von diesem Extrakt wurde 3 g einem Rind subkutan an der Seitenfläche des Halses injiziert. Nach Verlauf von 3 Stunden war die Temperatur von 39,1° C auf 40,6° C gestiegen, darauf blieb sie einige Stunden konstant und dann wurde sie wieder normal. Außer dieser Temperaturerhöhung trat bei dem Tier eine heftige Diarrhöe ein. Auch aus anderen Versuchen ging hervor, daß schon mit 500 mg von dieser Flüssigkeit eine deutliche Temperaturerhöhung, mit Diarrhöe verbunden, erzielt werden kann.

Wiederholung der Tuberkulininjektionen.

Bekanntlich gewöhnt sich das Rind gewissermaßen an das Tuberkulin; auf eine zweite Injektion, die bald nach einer ersten vorgenommen wird, folgt nur ausnahmsweise eine Reaktion. Es ist sehr natürlich, daß diese Eigentümlichkeit in Grenzorten, wo nur Rinder, die daselbst nicht auf Tuberkulin regierten, eingeführt werden durften, zu Betrug Anlaß gab. Die Rinder werden vom Eigentümer in frisch tuberkulinisiertem Zustande an die Grenze gebracht, dort reagierten sie, wie zu erwarten war, nicht und durften somit eingeführt werden.

Vallée[1]) schlug vor, die Tuberkulineinspritzung mit einer doppelten Dosis morgens vorzunehmen. Schon 2 Stunden später ist mit den Temperaturmessungen zu beginnen, und dieselben sind bis 14 bis 15 Stunden nach der Injektion fortzusetzen. Auf diese Weise behandelt, soll ein tuberkulöses Rind, das z. B. einige Tage zuvor tuberkulinisiert worden war, ebenso starke Reaktion zeigen, wie ein nichttuberkulinisiertes.

Nachstehende Tabellen geben eine Uebersicht über die erste und die nochmalige Tuberkulineinspritzung bei 8 Rindern, bei denen als erste Dosis 350 mg und als zweite 1 g Rohtuberkulin zur Anwendung kam:

1) Vallée, Sur l'accoutumance à la tuberculine. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1904. No. 4.)

Rind I.

24. Okt. morgens 5 Uhr 350 mg Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 38,9°
7 „ „ 38,8°
9 „ „ 39,0°
11 „ „ 39,3°
1 „ nachm. 39,2°
3 „ „ 39,7°
5 „ „ 40,3°
7 „ „ 40,5°
9 „ „ 40,7°
10 „ „ 40,6°

27. Okt. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 38,5°
7 „ „ 38,4°
9 „ „ 38,6°
11 „ „ 38,6°
1 „ nachm. 39,3°
3 „ „ 39,9°
5 „ „ 40,2°
7 „ „ 40,1°
9 „ „ 40,1°
10 „ „ 39,7°

Rind II.

1. Nov. morgens 5 Uhr 350 mg Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 39,0°
7 „ „ 38,8°
9 „ „ 39,1°
11 „ „ 39,1°
1 „ nachm. 38,6°
3 „ „ 39,0°
5 „ „ 39,5°
7 „ „ 40,0°
9 „ „ 40,5°
10 „ „ 40,2°

4. Nov. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 38,7°
7 „ „ 38,8°
9 „ „ 38,7°
11 „ „ 38,6°
1 „ nachm. 38,5°
3 „ „ 39,0°
5 „ „ 39,9°
7 „ „ 39,9°
9 „ „ 40,1°
10 „ „ 39,9°

Rind III.

1. Nov. morgens 5 Uhr 350 mg Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 38,6°
7 „ „ 38,8°
9 „ „ 39,3°
11 „ „ 39,4°
1 „ nachm. 39,4°
3 „ „ 39,6°
5 „ „ 38,8°
7 „ „ 40,1°
9 „ „ 40,5°
10 „ „ 40,8°

4. Nov. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 38,6°
7 „ „ 39,0°
9 „ „ 39,3°
11 „ „ 39,7°
1 „ nachm. 40,1°
3 „ „ 40,4°
5 „ „ 40,2°
7 „ „ 40,6°
9 „ „ 40,7°
10 „ „ 40,3°

Rind IV.

6. Nov. morgens 5 Uhr 350 mg Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 39,3°
7 „ „ 39,5°
9 „ „ 39,5°
11 „ „ 39,5°
1 „ nachm. 39,4°
3 „ „ 39,3°
5 „ „ 39,0°
7 „ „ 39,0°
9 „ „ 39,2°
10 „ „ 39,0°

10. Nov. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 38,8°
7 „ „ 38,7°
9 „ „ 38,9°
11 „ „ 38,5°
1 „ nachm. 38,6°
3 „ „ 38,5°
5 „ „ 38,8°
7 „ „ 39,3°
9 „ „ 39,1°
10 „ „ 38,9°

Rind V.

6. Nov. morgens 5 Uhr 350 mg Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 39,1°
7 „ „ 39,1°
9 „ „ 39,0°
11 „ „ 39,3°

10. Nov. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5 Uhr morgens 39,4°
7 „ „ 39,6°
9 „ „ 40,0°
11 „ „ 40,5°

1	Uhr nachm.		40,1°
3	„	„	40,8°
5	„	„	40,6°
7	„	„	40,6°
9	„	„	40,8°
10	„	„	40,5°

1	Uhr nachm.		40,8°
3	„	„	40,8°
5	„	„	40,7°
7	„	„	40,7°
9	„	„	40,6°
10	„	„	40,4°

Rind VI.

12. Nov. morgens 5 Uhr 350 mg Rohtuberkulin

5	Uhr morgens		38,9°
7	„	„	38,7°
9	„	„	38,7°
11	„	„	38,9°
1	„	nachm.	39,0°
3	„	„	40,0°
5	„	„	39,9°
7	„	„	39,9°
9	„	„	40,0°
10	„	„	39,7°

15. Nov. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5	Uhr morgens		38,8°
7	„	„	39,0°
9	„	„	39,1°
11	„	„	39,4°
1	„	nachm.	39,4°
3	„	„	39,4°
5	„	„	39,3°
7	„	„	39,2°
9	„	„	39,3°
10	„	„	39,2°

Rind VII.

12. Nov. morgens 5 Uhr 350 mg Rohtuberkulin

5	Uhr morgens		38,9°
7	„	„	39,0°
9	„	„	39,0°
11	„	„	39,4°
1	„	nachm.	40,4°
3	„	„	40,9°
5	„	„	40,8°
7	„	„	40,9°
9	„	„	41,0°
10	„	„	40,9°

15. Nov. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5	Uhr morgens		38,7°
7	„	„	38,6°
9	„	„	38,5°
11	„	„	39,3°
1	„	nachm.	39,7°
3	„	„	40,9°
5	„	„	40,7°
7	„	„	40,5°
9	„	„	40,5°
10	„	„	40,0°

Rind VIII.

[illegible] Dez. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5	Uhr morgens		38,8°
7	„	„	38,7°
9	„	„	39,3°
11	„	„	39,6°
1	„	nachm.	40,8°
3	„	„	40,9°
5	„	„	40,7°
7	„	„	40,0°
9	„	„	39,8°
10	„	„	39,7°

9. Dez. morgens 5 Uhr 1 g Rohtuberkulin

5	Uhr morgens		38,6°
7	„	„	38,9°
9	„	„	39,5°
11	„	„	40,1°
1	„	nachm.	40,4°
3	„	„	40,7°
5	„	„	40,6°
7	„	„	40,5°
9	„	„	40,3°
11	„	„	39,9°

Rind No. I. 1. Tub.-Inj. 49,7° C. 2. Tub.-Inj. 40,2° C.
Sektion: Lg. retroph., Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen, Leber, Nieren, Milz, Serosae. (Tuberkulose.)

Rind No. II. 1. Tub.-Inj. 40,5° C. 2. Tub.-Inj. 40,1° C.
Sektion: Lg. retroph., Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen, Leber. (Tuberkulose.)

Rind No. III. 1. Tub.-Inj. 40,8° C. 2. Tub.-Inj. 40,7° C.
Sektion: Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen. (Tuberkulose.)

Rind No. IV. 1. Tub.-Inj.: Keine Reaktion. 2. Tub.-Inj.: Keine Reaktion.
Sektion: Chronische Bronchopneumonie.

Rind No. V. 1. Tub.-Inj. 40,8° C. 2. Tub.-Inj. 40,8° C.
Sektion: Lg. retroph., Lg. port., Lg. mesent., Lg. supra-mamm., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen, Nieren, Serosa, Uterus. (Tuberkulose.)

Rind No. VI. 1. Tub.-Inj. 40° C. 2. Tub.-Inj.: Keine Reaktion.
Sektion: Lg. mesent. (Tuberkulose.)

Rind No. VII. 1. Tub.-Inj. 41° C. 2. Tub.-Inj. 40,9° C.
Sektion: Lg. retroph., Lg. mesent., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen. (Tuberkulose.)

Rind No. VIII. 1. Tub.-Inj. 40,9° C. 2. Tub.-Inj. 40,7° C.
Sektion: Lg. submax., Lg. bronch., Lg. mediast., Lungen. (Tuberkulose.)

Schlußfolgerungen.

a) In der Regel kann man einige Tage nach der gewöhnlichen Tuberkulineinspritzung durch eine zweite Injektion (1 g Tuberkulin) wieder eine Reaktion verursachen.

b) Daß man dieselbe aber **nicht konstant** hervorrufen kann, geht aus No. VI hervor: Auf die 1. Injektion folgte eine Reaktion bis auf 40° C, während nach der 2. nur eine geringe Temperaturerhöhung beobachtet wurde.

c) Die 2. Reaktion tritt meistens schneller als die erste ein und ist etwas schwächer.

d) Die 2. Reaktion ist unabhängig von der größeren Dosis, denn bei Rind VIII wurde 2mal dieselbe Dosis von 1 g eingespritzt und beide Male stellten sich Reaktionserscheinungen ein.

Wertbestimmung des Tuberkulins.

Schon Koch[1]) gab im Jahre 1891 eine Wertbestimmung des Tuberkulins an, welche darin bestand, daß Meerschweinchen, die 4 Wochen vorher mit tuberkulösem Material geimpft waren, infolge einer Tuberkulineinspritzung von $^1/_2$ g innerhalb 30 Stunden unter den Erscheinungen einer heftigen hämorrhagischen Entzündung in der Nähe der tuberkulösen Herde und der Injektionsstelle verendeten.

Im Jahre 1897 wurde dem Ehrlichschen Institut die Kontrolle der in den Handel gebrachten Tuberkulinpräparate aufgetragen. Diesbezügliche, von W. Dönitz[2]) angestellte Versuche zeigten, daß Meerschweinchen, die mit $^1/_2$ mg einer 9—11 Tage alten TB-Kultur geimpft waren, gegen das Ende der 2. und im Anfange der 3. Woche allmählich an Gewicht verloren. Impft man solche Meerschweinchen zu dieser Zeit mit 0,1—0,3 ccm Tuberkulin, dann gehen sie, je nach der Wirksamkeit des Präparates, nach einiger Zeit zu Grunde. Als Gewicht dieser Meerschweinchen gibt er 350—400 g an.

Die letztere Methode wurde hinsichtlich ihres Wertes in betreff der Bestimmung der Wirksamkeit des Tuberkulins genau kontrolliert, und zwar mit dem folgenden Resultate:

Am 17. Mai wurden 10 Dosen, jede von $^1/_2$ mg von einer 10 Tage alten TB-Kultur genau abgewogen und jede, nachdem man sie mit 2 g einer 0,6-proz. NaCl-Lösung verrieben hatte, einem Meerschweinchen injiziert. Das Gewicht der Tiere, das bei der Impfung resp. betrug: 400, 370, 380, 385, 390, 315, 380, 390, 350, 390 g war nach Ablauf von 3 Wochen: 440, 430, **360**, 475, **405**, 360, 440, **345 325 400** g.

Von einer allgemeinen Gewichtsabnahme, von welcher Dönitz spricht, ist also nicht die Rede. Dies konnte nur bei 3 Tieren (No. III, VIII und IX) nachgewiesen werden; bei 2 Tieren (No. V und X) war die Gewichtszunahme äußerst gering; bei den übrigen 5 ziemlich stark.

Am 6. Juni erhielten die Meerschweinchen No. I, II, III, IV, V, VIII, IX und X jedes $^1/_2$ g Tuberkulin subkutan; infolgedessen starben

1) Koch, R., Weitere Mitteilungen über das Tuberkulin. (Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 43.)

2) Dönitz, W., Untersuchungen über die Wertbestimmung des gewöhnlichen Tuberkulins. (Klin. Jahrb. Bd. LVII. 1898.)

am 7. Juni No. III, IV, VIII, IX und X, während No. I, II, V am Leben blieben, und erst nach einer zweiten Injektion von $^1/_2$ g Tuberkulin verendeten auch diese.

Die Nummern VI und VII, die nicht tuberkulinisiert waren, gingen nach 7—8 Wochen an Tuberkulose zu Grunde; die verwendete Kultur wäre also nach Dönitz virulent genug gewesen, trotzdem war es nicht gelungen, mit Tuberkulin, das durch Einspritzungen bei tuberkulösen Rindern seine Wirksamkeit bewiesen hatte, tuberkulöse Meerschweinchen in der festgesetzten Zeit konstant zu töten.

Ein anderer Versuch wurde am 16. Okt. angestellt; 6 Meerschweinchen wurden an diesem Tage jedes mit $^1/_2$ mg von einer getrockneten TB-Kultur subkutan infiziert. Nach 3 Wochen hatte das Körpergewicht von 2 dieser Tiere abgenommen, das Gewicht von einem war unverändert geblieben und das von 3 hatte zugenommen. Am 8. Nov. wurden 3 dieser Meerschweinchen mit 0,2 ccm Tuberkulin eingeimpft und 3 mit 0,25 ccm; am folgendem Tag waren letztere 3 tot; während die ersteren, nachdem sie am 20. Nov. mit $^1/_5$ g Tuberkulin behandelt waren, am 21. Nov. an den Folgen dieser Einspritzung starben.

Aus Obigem geht somit hervor, daß die Methode Dönitz für die Wertbestimmung des Tuberkulins in vielen Fällen kein ausreichendes und oft recht unzuverlässiges Resultat gibt. Nur da, wo man eine hinreichende Zahl von tuberkulösen Rindern zur Verfügung hat, ist man imstande, auf **sichere und zuverlässige Weise** das Tuberkulin auf seine Wirksamkeit zu kontrollieren.

Am Schlusse dieser Abhandlung noch ein paar Worte über die Beurteilung der Tuberkulinreaktion. Wie schon oben mitgeteilt, wurde von mehreren Forschern angegeben, was man unter positiver Reaktion und was man unter negativer Reaktion versteht.

Mit Rücksicht auf die Temperaturmessungen bei 1712 Rindern, bei denen die Tuberkulininjektion vorgenommen wurde, darf mit Recht der Schluß gezogen werden, daß es keine Grenze gibt, unter der man mit Bestimmtheit das Vorhandensein von Tuberkulose ausschließen kann; daß, wenn man eine Reaktionstemperatur von mindestens 40° C bei einer Vortemperatur von höchstens 39,5° C, fordert, man es bei gewissenhafter Sektion und Verwendung des auf oben angegebene Weise bereiteten Tuberkulins nur mit einer sehr kleinen Anzahl von Fehlergebnissen zu tun haben wird. Je höher die Temperatur über 40° C steigt, desto kleiner wird die Zahl der Fehlergebnisse werden.

Nun liegt mir noch die angenehme Pflicht ob, an dieser Stelle Herrn Dr. J. Poels, Direktor des Reichsseruminstitutes zu Rotterdam, meinen herzlichsten Dank für seine hochgeschätzte Hilfe und für sein reges Interesse an meiner Arbeit auszusprechen.

Ueber die immunisierende Kraft der normalen Nervensubstanz, verglichen mit der Wutnervensubstanz, der Wut gegenüber.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Sassari.]

Von Prof. **Claudio Fermi.**

(Fortsetzung.)

IV. Serie.

a) Getrocknete normale Nervensubstanz von Hunden.

Versuch, 6. Mai 1907. 6 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion von gesundem Hundehirn zu 5 Proz., welches auf Aetznatron 3 Tage lang bei einer Temperatur von 18° (Methode Pasteur) ausgetrocknet worden war. Jedes Tier erhielt 30 ccm Emulsion.

Resultat. Eins der Tiere stirbt aus unbekannten Gründen am 17. Mai, d. i. nach 11 Tagen; 2 andere weisen am 19. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am selben Tage 12 Uhr vorm.; ein viertes zeigt am 23. Mai 7½ Uhr nachm. Lähmung und stirbt am 24. Mai 7 Uhr abends. Die beiden anderen bleiben am Leben. Folglich wurden 2 von 5 Tieren gerettet.

Versuch, 7. Mai 1907. 7 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer 1 Proz. Karbol enthaltenden Emulsion von frischem gesunden Kaninchenhirn zu 5 Proz. Die im ganzen verabreichte Menge betrug pro Tier 30 ccm Emulsion.

Resultat. Eine der Ratten verendet aus unbestimmten Gründen am 11. Mai, d. i. nach 10 Tagen; 1 andere weist am 19. Mai 8 Uhr vorm. eine unsichere Lähmung auf und wird am 19. Mai 8 Uhr abends tot aufgefunden; eine dritte weist am 21. Mai 8½ Uhr nachm. Paralyse auf und geht am 22. Mai 7 Uhr vorm. ein; die 4 anderen bleiben am Leben; sie lebten noch am 8. Juni. Man hatte somit von 6 Ratten 4 gerettet, denn eine starb aus unbekannten Gründen.

b) Wutnervensubstanz, getrocknet, von Kaninchen.

Versuch, 6. Mai 1907. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion vom Gehirn eines wutkranken Kaninchens, welches auf Aetznatron 3 Tage hindurch bei einer Temperatur von 18° (Methode Pasteur) getrocknet worden war. Im ganzen wurden jedem Tiere 30 ccm Emulsion verabreicht.

Resultat. Eine der Ratten starb am 23. Mai 7 Uhr vorm., doch weiß man nicht, ob an der Wut oder nicht; die anderen 4 bleiben am Leben; sie lebten noch am 8. Juni.

Folglich wurden von 5 Tieren 4 gerettet.

Versuch, 6. Mai 1907. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten, frischen Hirnemulsion zu 5 Proz. von einem wutkranken Kaninchen.

Resultat. Die Tiere bleiben alle am Leben; sie lebten noch am 8. Juni.

Kontrollversuch, 6. Mai 1907. 2 weiße Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Ein Tier weist am 17. Mai 7 Uhr vorm. Paralyse auf und stirbt am selben Tage um 4 Uhr nachm.; dasselbe war von wirklich furiöser Wut befallen, biß und griff die anderen an; das andere zeigte am 17. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung und starb am 18. Mai 7 Uhr nachm.

V. Serie.

Der Unterschied zwischen der immunisierenden Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz, der von mir so unerwartet infolge des Austrocknens klargelegt wurde, überraschte mich nicht wenig, und ich hielt es nicht für überflüssig, eine fünfte Reihenfolge von Versuchen mit normaler Nervensubstanz zu unter-

nehmen und nicht nur Lämmer, sondern auch Kaninchen dazu zu verwerten, um die Nervensubstanz derselben Art von Tieren anzuwenden, der auch die Wutsubstanz angehörte.

a) Getrocknete normale Nervensubstanz von Kaninchen.

Versuch, 25. Mai 1907. 4 weißen und 1 schwarzen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratte werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion von gesundem Kaninchenhirn zu 5 Proz., 3 Tage lang auf Aetznatron (Temperatur 18°, Methode Pasteur), verabreicht. Im ganzen erhält jedes Tier 30 ccm Emulsion.

Resultat. Eins der Tiere weist am 13. Juni abends 9 Uhr Paralyse auf und verendet am 17. Juni 7 Uhr vorm.; die anderen bleiben am Leben.

b) Getrocknete normale Nervensubstanz vom Lamm.

Versuch, 25. Mai 1907. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten Emulsion von 5-proz. gesundem Lammhirn, welches 3 Tage lang auf Aetznatron (Temperatur 18°, Methode Pasteur) getrocknet worden war. Im ganzen erhielt jedes Tier 30 ccm Emulsion.

Resultat. Eine der Ratten weist am 13. Juni 9 Uhr abends Paralyse auf und verendet am 14. Juni um 12 Uhr; eine andere stirbt plötzlich nach 1 Monat und die anderen bleiben am Leben.

Aus dieser fünften Reihe von Versuchen geht hervor:

1) Daß von den mit Straßenvirus subkutan infizierten und der früher gebrauchten Methode gemäß mit Emulsionen von getrocknetem, gesundem Kaninchenhirn immunisierten Ratten 4 : 5 gerettet wurden.

2) Daß von 5 ebenfalls mit Straßenvirus infizierten und mit einer Emulsion von getrocknetem, gesundem Lammhirn behandelten Ratten 3 gerettet wurden, eine aber nach 1 Monat, jedoch aus unbekannten Gründen, verendete.

3) Folglich hätte hier in der V. Serie der Versuche auch die getrocknete normale Nervensubstanz vom Kaninchen und Lamm die Tiere in einem Verhältnis von ungefähr 86 Proz. oder auch von 80 Proz., falls man die nach 1 Monat aus unbekannten Gründen verendete Ratte als an der Wut gestorben betrachten will, gerettet.

Es bleibt also bestätigt, daß das Austrocknen die immunisierende Kraft der Nervensubstanz vermindert.

Schlußfolgerung. 1) Bei den ersten, an 64 Tieren angestellten Versuchen bemerkte man, daß beim Abschwächen der immunisierenden Kraft der beiden Nervensubstanzen mittels leichten Austrocknens (3 Tage lang auf Aetznatron bei 18°) ein deutlicher Unterschied zwischen denselben zu Tage tritt, und zwar ganz besonders mit einer ausgesprochenen Superiorität der Wutnervensubstanz gegenüber der normalen. Während in der Tat von 25 Muriden, die mit Straßenvirus infiziert und mit getrockneter normaler Nervensubstanz (Hirn vom Lamm und Hunde) behandelt wurden, 2, d. h. ungefähr 10 Proz., gerettet wurden, rettete man von 26, mit getrockneter Wutnervensubstanz (Kaninchen) behandelten 18 = ungefähr 70 Proz.

Andere Versuche, die an 40 Muriden angestellt wurden, zeigten dagegen, daß die normale Nervensubstanz die Tiere in einem Verhältnis von 80 Proz. rettete, während die Wutnervensubstanz nur 70 Proz. rettete. In diesen Versuchen hätte also die Wutnervensubstanz keinen Vorteil der normalen gegenüber gezeigt.

Die Resultate der 1. und 2. Reihenfolge von Versuchen zusammenfassend, ergäbe sich somit, daß die normale Nervensubstanz 45 Proz. und die Wutnervensubstanz 70 Proz. der Tiere rettete.



2) Daß das Austrocknen auch sehr stark die immunisierende Kraft der Wutnervensubstanz herabsetzt, denn während dieselbe im frischen Zustand (mein Impfstoff) 100 Proz. der Tiere rettete, rettete sie, 3 Tage hindurch auf Aetznatron, bei 18° getrocknet, wie bereits gesagt, nur 70 Proz. Demnach ist das Austrocknen bei der Zubereitung des Impfstoffes gegen die Wut vollständig abzuschaffen, indem man den Pasteurschen Impfstoff durch einen mit fixem Virus, mit Hilfe eines geeigneten Antiseptikums sterilisierten (Karbolsäure 0,5—1 Proz.) ersetzt[1]).

Den von mir angestellten Versuchen zufolge zeigt sich bisher, daß die immunisierende Kraft gegenüber der Wut bei den Muriden, der frischen normalen Nervensubstanz vom Lamm, dem Pasteurschen, mit getrockneter Wutnervensubstanz vom Kaninchen bereiteten Impfstoffe nicht nachsteht.

V. Vergleich der immunisierenden Kraft der Emulsion von frischem gesunden Lammhirn zu 5 Proz. mit dem Pasteurschen Impfstoff.

Nachdem ich die frische Wutnervensubstanz mit der ebenfalls frischen, und nachdem ich beide Substanzen im trockenen Zustande verglichen, wollte ich besonders das Pasteursche Vaccin mit der frischen normalen Nervensubstanz (vom Lamm) vergleichen, um zu entscheiden, ob diese mehr oder minder aktiv sei als der französische Impfstoff.

Schon aus den vorhergehenden Versuchen[2]) an 36 Muriden bezüglich der Immunisierung mittels Pasteurschem Virus gegen die subkutane vorliegende Infektion mit Straßenvirus ergab sich, 1) daß die Tiere, 16 an der Zahl, mit 20—45 ccm Impfstoff sämtlich an Wut verendeten. Man rettete nur 4 schwarze, mit 30 ccm fixen Virus vom 3. und 4. Tage geimpfte Ratten; 2) beim Impfen der Tiere hingegen mit 60–80 ccm Impfstoff blieben dieselben, 20 an der Zahl, sämtlich am Leben, also 100 Proz.

Aus diesen meinen Resultaten geht also hervor, daß höchst wahrscheinlich der Pasteursche Impfstoff, wenigstens bei den Muriden, keine stärkere immunisierende Kraft aufweist, als die frische, normale Nervensubstanz.

Die diesbezüglich neu angestellten Versuche waren folgende:

a) Frische normale Nervensubstanz vom Lamme.

Versuch 1, 22. Mai 1907. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit 1-proz.

---

1) Nach Bardach und Högyes wäre die Wirkung des mittels trockenen Marks hergestellten Impfstoffes geringer als des durch frisches Mark erzielten:
Dies kann man deutlich der folgenden, von Högyes gegebenen Tabelle entnehmen:

Sterblichkeit der Gebissenen, die mit		
	durch Trocknen erlangtem Mark	mit frischem virulenten Mark behandelt wurden
Bisse am Kopfe	† 6,56 Proz.	† 1,8 Proz.
„ an den Händen	† 1,20 „	† 0,86 „
„ an Füßen, am Rumpf oder an bedeckten Teilen	† 0,77 „	† 0,00 „

Nach Gamaleia wäre die Anzahl der Mißerfolge der Pasteurschen Kur viel höher im Sommer, und dies gerade, weil in dieser Jahreszeit die Austrocknung des Markes viel schneller und heftiger erfolgt.

2) Fermi, C., Ueber die Immunisierung gegen Wutkrankheit. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LVIII. 1907.)

Karbolsäure versetzten Emulsion von frischem gesunden 5-proz. Lammhirn. Im ganzen erhält jedes der Tiere 30 ccm Emulsion.

Resultat. Eins der Tiere wird nach einem Monate tot vorgefunden, nämlich am 22. Juni; die anderen bleiben am Leben.

Versuch 2, 1. Juli 1907. 10 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten sofort 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer Emulsion vom frischem gesunden Lammhirn. Gesamtmenge pro Tier 30 ccm.

Resultat. Die Tiere bleiben mit Ausnahme von 2 am Leben. Diese weisen, eins am 18. Juli 4 Uhr nachm., das andere am 19. Juli 7 Uhr vorm., Lähmung auf und verenden am 19. Juli 7 Uhr abends, resp. am 20. Juli um 7 Uhr vorm.

Kontrollversuch 1, 1. Juli 1907. 3 weiße Ratten wurden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Am 11. Juli 4 Uhr nachm. weisen die Tiere Lähmung auf und verenden am 18. Juli 7 Uhr vorm.

Kontrollversuch 2, 22. Mai 1907. Eine weiße Ratte wird mit Straßenvirus subkutan infiziert.

Resultat. Das Tier weist am 5. Juni 9 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 6. Juni 10 Uhr vorm.

Kontrollversuch 3, 25. Mai 1907. Eine weiße Ratte wird subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Das Tier zeigt am 13. Juni 9 Uhr abends Lähmung und verendet am 16. Juli 7 Uhr vorm.

b) Pasteurscher Impfstoff.

Versuch am 1. Juli 1907. 10 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten sofort 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Pasteurschem Impfstoff von M. 10 bis M. 1 (10—9—8—7—6—6—5—5—4—4—6—6—5—5—4—4—3—3—3—3—3—3—6—6—6—5—5—2—2—2—1—1). Im ganzen 30 ccm.

Resultat. Eine Ratte ist am 16. Juli 4 Uhr nachm. gelähmt und verendet am 18. Juli 7 Uhr vorm.; 2 andere weisen Lähmung auf, eine am 17. Juli 7 Uhr vorm., die andere am 16. Juli 7 Uhr vorm. und verenden beide am 19. Juli 5 Uhr nachm. Die anderen bleiben am Leben.

Schlußfolgerung. Aus diesen Versuchen geht hervor:

1) Daß von 15 mit Straßenvirus infizierten und mit frischem, gesunden Lammhirn immunisierten Ratten 12 gerettet wurden. Von den 3 verendeten gingen freilich 2 an Wut ein, 1 aber verendete erst nach einem Monate infolge unbekannter Gründe. Folglich wurden 86,6 Proz. gerettet;

2) daß der Pasteursche Impfstoff 7 : 10 der subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten rettete, nämlich 70 Proz.;

3) daß die mit Karbolsäure versetzte Emulsion von frischem, normalem Lammhirn den Pasteurschen Impfstoff übertrifft.

Denn während mit der Emulsion von frischer, normaler Nervensubstanz 13 : 15, d. i. 86,6 Proz., der subkutan mit Straßenvirus infizierten Tiere, ohne die infolge unbekannter Ursachen verendete Ratte mitzuzählen, gerettet wurden, und sämtliche Kontrolltiere zu Grunde gingen, wurden mit dem Pasteurschen Impfstoffe nur 70 Proz. gerettet.

Ja, wie im 1. Kapitel gezeigt wurde, rettete die frische normale Substanz (Lamm) 100 Proz. der Tiere, wenn dieselbe in einer Emulsion von 10 Proz angewandt wurde.

VI. Einfluß der Erhitzung auf 100, 98, 75 Grad auf die Impfwirkung der normalen und der Wutnervensubstanz.

Von nicht geringer Bedeutung schien es mir ebenfalls, zu untersuchen, ob die immunisierende Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz dem Kochen widersteht oder nicht.

Die folgenden Versuche hatten den Zweck, die Frage zu beantworten:

a) Normale Nervensubstanz 30 Minuten auf 100° erhitzt.

Versuch am 15. Febr. 1907. 5 weiße Mäuse, die mit Straßenvirus infiziert worden waren, erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Emulsion von gesundem Lammhirn zu 5 Proz. 30 Minuten lang auf 100° erhitzt und $^1/_2$ Proz. Karbolsäure enthaltend. Im ganzen erhält jedes Tier $7^1/_2$ ccm Emulsion.

Resultat. 4 Mäuse weisen am 6. März 9 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am selben Tage 2 Uhr nachm.; die 5. weist am 9. März 8 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am gleichen Tage 3 Uhr nachm. 4 dieser Tiere weisen eine Verspätung von 1 Tag, und das 5. eine solche von 4 Tagen gegenüber den Kontrolltieren auf.

Die 30 Minuten lang auf 100° erhitzte normale Nervensubstanz verliert also ihre Impfkraft.

Versuch am 1. Okt. 1907. 6 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit Karbolsäure (1 Proz.) versetzten Emulsion von gesundem Lammhirn (10 Proz.), welches einer Temperatur von 100° angesetzt war. Im ganzen erhielt jedes Tier 30 ccm Emulsion.

Resultat. 3 Ratten weisen am 16. April 8 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 16. April 5 Uhr nachm.; die anderen 3 weisen am 17. April 9 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 18. April 5 Uhr nachm.; 2 dieser Tiere weisen eine Verspätung von 2 Tagen gegenüber den Kontrolltieren auf.

Kontrollversuch am 1. April 1907. 4 weiße Ratten wurden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Eine weist am 13. April 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 14. April 7 Uhr vorm.; eine andere weist am 14. April 11 Uhr vorm. Lähmung auf und geht am 15. April 4 Uhr früh ein; die 3. weist am 15. April 9 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 16. April 8 Uhr vorm., die 4. stirbt ohne Lähmung am 13. April.

b) Wutnervensubstanz 30 Minuten lang auf 100° erhitzt.

Versuch am 15. Febr. 1907. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Emulsion von frischem Virus zu 5 Proz., 30 Minuten lang auf 100° erhitzt und $^1/_2$ Proz. Karbolsäure enthaltend. Im ganzen erhält jedes Tier $7^1/_2$ ccm Emulsion.

Resultat. 3 Mäuse weisen am 6. März vorm. Lähmung auf und verenden am 7. März 8 Uhr vorm., die beiden anderen weisen am 8. März Lähmung auf und verenden am selben Tage.

Folglich hat auch die Wutnervensubstanz wie die normale bei Erhitzung 30 Minuten lang auf 100° ihre immunisierende Kraft verloren.

Kontrollversuch am 15. Febr. 1907. 2 weiße Mäuse wurden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Sie weisen am 5. März 8 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am selben Tage um 6 Uhr abends.

a) Normale Nervensubstanz 30 Minuten lang auf 98° erhitzt.

Versuch am 21. April 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm von einer mit 1-proz. Karbolsäure versetzten Emulsion von gesundem Lammhirn zu 10 Proz. 15 Minuten lang auf 98° erhitzt. Im ganzen erhält jedes Tier $7^1/_2$ ccm.

Resultat. Eine Maus verendet am 4. Mai, d. i. nach 14 Tagen, aus unbekannten Gründen, eine andere verendet ebenfalls aus unbekannten Gründen am 6. Mai, nämlich nach 16 Tagen, und die 3. weist am 7. Mai 12 Uhr mittags Lähmung auf und verendet am 7. Mai 4 Uhr nachm. Eine der 3 Mäuse zeigt eine Verspätung von 2 Tagen, eine andere von 3 Tagen gegenüber den Kontrolltieren. Folglich hätte die normale Nervensubstanz bei einer Erhitzung von 98° 30 Minuten lang ihre immunisierende Kraft verloren.

b) Wutnervensubstanz auf 98° 30 Minuten lang erhitzt.

Versuch am 21. April 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage hindurch 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einem mit Karbolsäure (1 : 100) versetzten Emulsion vom Gehirn eines wutkranken Kaninchen (fixem Virus) zu 10 Proz., 15 Minuten lang auf 98° erhitzt. Gesamtmenge pro Maus $7^1/_2$ ccm.

Resultat. Eine Maus weist am 7. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am selben Tage 8 Uhr abends; eine andere weist am 6. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 7. Mai 7 Uhr vorm.; die 3. bleibt am Leben.

2 Tiere sterben mit einer Verspätung von 2—3 Tagen gegenüber den Kontrolltieren. Folglich hätte die auf 98° 30 Minuten lang erhitzte Wutnervensubstanz ihre immunisierende Kraft verloren.

a) Normale Nervensubstanz 15 Minuten lang auf 75° erhitzt.

Versuch am 21. April 1907. 2 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1/4 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion (1:100) von gesundem Lammhirn zu 10 Proz. 15 Minuten lang auf 75° erwärmt. Gesamtmenge pro Tier 7 1/2 ccm.

Resultat. Eine Maus verendet nach 2 Tagen aus unbekannten Gründen, die beiden anderen weisen am 6. Mai 8 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden an Wut am 7. Mai 7 Uhr vorm.

2 dieser 3 Tiere sind mit einer Verspätung von 2 Tagen den Kontrolltieren gegenüber gestorben.

Die normale Nervensubstanz verliert noch bei ihrer Erhitzung auf 75° ihre immunisierende Kraft.

a) Wutnervensubstanz 15 Minuten lang auf 75° erhitzt.

Versuch am 21. April 1907. 3 weiße Mäuse, die subkutan mit Straßenvirus infiziert worden waren, erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1/4 Proz. einer mit Karbolsäure (1:100) versetzten Emulsion vom Hirn eines wutkranken Kaninchens (fixem Virus) zu 10 Proz. 15 Minuten lang auf 75° erhitzt. Gesamtmenge pro Tier 7 1/2 ccm.

Resultat. Eine Maus weist am 4. Mai 7 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 5. Mai 7 Uhr vorm.; eine andere wird am 10. Mai 7 Uhr vorm. paralytisch und verendet am 10. Mai 9 Uhr abends; die 3. verendet am 6. Mai 7 Uhr vorm., wahrscheinlich an Wut.

Eine dieser 3 Mäuse stirbt mit Verspätung von 5 Tagen den Kontrolltieren gegenüber. Die auf 75° erhitzte Nervensubstanz hätte also ihre immunisierende Kraft verloren.

Kontrollversuch am 21. April 1907. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan 1/4 ccm einer Emulsion von Straßenvirus.

Resultat. Die beiden Tiere weisen am 4. Mai 7 Uhr abends Lähmung auf und verenden am 5. Mai 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: Aus diesen Versuchen ergibt sich demnach, daß die normale und die Wutnervensubstanz bei Erhitzung auf 100° und 98° 30 Minuten lang oder auch 15 Minuten lang auf 75° vollständig ihre immunisierende Wirkung gegen die Wutinfektion verlieren. In der Tat wurden 28 Muriden subkutan mit Straßenvirus infiziert und dann 12—15 Tage lang täglich mit 2 Einspritzungen einer Emulsion von entweder normalen oder Wutnervensubstanz bei obiger Temperatur behandelt, und alle diese Tiere gingen zu Grunde, ebenso gingen auch die Kontrolltiere, mit Ausnahme eines einzigen, ein, indem die ersteren nur einige Tage Verspätung dem letzten gegenüber aufwiesen.

Die in der normalen Nervensubstanz und in dem Antiwutimpfstoff enthaltene immunisierende Substanz ist folglich nicht nur bei 100°, sondern auch bei 75° veränderlich.

VII. Immunisierende Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz unter der Einwirkung des natürlichen und des künstlichen Magensaftes.

Ein anderer Weg, um den Unterschied in der immunisierenden Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz zu beweisen, war der, beide Substanzen auch irgend einem chemischen Faktor auszusetzen. Als letztere wählte ich den Magensaft, um die sogenannte italienische Impfmethode mit dem Pasteurschen Vaccin und mit der meinigen zu vergleichen.

Bevor wir die immunisierende Wirkung der, der Tätigkeit des Magensaftes ausgesetzten normalen Wutnervensubstanz vergleichen, ist es unumgänglich notwendig, die lyssatötende Kraft desselben zu studieren. Zu diesem Zwecke wurden folgende Versuche angestellt:

a) Natürlicher Magensaft vom Hunde[1]).

Versuch I. 22. Juni 1907. Zu 1 ccm fixem Virus 1:10 füge ich 0,5 resp. 1—1,5 ccm natürlichen Magensaft vom Hunde und nach 3 Stunden spritze ich einer schwarzen Maus $^1/_4$ ccm dieser drei Proben ein.

Resultat. Zwei dieser mit den verschiedenen Mischungen von fixem Virus und Magensaft im Verhältnis vo 0,5—1 ccm eingespritzten Tiere bleiben am Leben, während das dritte mit einer Mischung, welche 1,5 ccm Magensaft enthält, geimpfte Tier am 28. Juni 7 Uhr vorm. tot aufgefunden wird. Todesursache unbekannt.

Versuch II. 22. Juni 1907. Zu 1 ccm fixen Virus 1:10 wurden 0,5 resp. 1—1,5 ccm natürlicher Magensaft vom Hunde hinzugefügt, und nach 30 Minuten wird $^1/_4$ ccm einer der drei Proben einer schwarzen Maus eingespritzt.

Resultat. Die mit der Mischung, welche 0,5 ccm Magensaft enthält, eingespritzte Maus weist am 26. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 27. Juni 10 Uhr vorm. Die mit der Mischung, welche 1 ccm Magensaft enthält, geimpfte Maus bleibt am Leben. Die dritte mit 1,5 ccm Magensaft geimpfte wird am 28. Juni 7 Uhr vorm. tot aufgefunden. Todesursache unbekannt.

b) Künstlicher Magensaft.

Der Magensaft, der zu folgenden Versuchen diente, wurde mit Grüblerschem Pepsin und Chlorsäure zubereitet.

Versuch I. 22. Juni 1907. Zu 1 ccm fixen Virus 1:10 wurden 0,5 resp. 1—1,5 ccm künstlicher Magensaft hinzugefügt, und nach 3 Stunden wird $^1/_4$ ccm dieser drei Proben einer schwarzen Maus eingeimpft.

Resultat. Die Tiere bleiben alle am Leben.

Versuch II. 22. Juni 1907. Zu 1 ccm fixen Virus 1:10 werden 0,5 resp. 1—1,5 ccm künstlichen Magensaftes hinzugefügt, und nach 3 Stunden wird $^1/_4$ ccm dieser drei Proben einer schwarzen Maus eingespritzt.

Resultat. Die beiden mit den Mischungen, welche 0,5 und 1 ccm Magensaft enthielten, behandelten Mäuse bleiben am Leben. Die dritte mit der Mischung zu 1,5 ccm Magensaft inokulierte Maus wird am 29. Juni 7 Uhr vorm. tot aufgefunden. Todesursache unbekannt.

Kontrollversuch. 22. Juni 1907. 2 schwarze Mäuse werden mit einer aus 1 ccm fixen Virus 1:10 und 1,5 ccm sterilisierten Wassers bestehenden Mischung (zum Vergleich) infiziert.

Resultat. Die beiden Tiere weisen am 26. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am 27. Juni 10 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: Diese vier Versuche ergeben:

1) daß der natürliche Magensaft das fixe Virus im Verhältnis von 25 Proz. zerstört, indem die Wirkung 3 Stunden verlängert wird;

2) daß derselbe Magensaft das fixe Virus nur im Verhältnis von 50 Proz. zerstört, indem er die Wirkung desselben nur um 30 Minuten verlängert;

3) daß der künstliche Magensaft wirksamer war, da er das fixe Virus auch im Verhältnis von 33 Proz. zerstörte, indem er die Wirkung desselben nur um 30 Minuten verlängerte.

Diese Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: 10 g Nervensubstanz wurden in 100 ccm Magensaft von einem Hunde[2]) oder in künstlichen Magensaft (Pepsin Grübler 3 Prom., HCl 2 Prom.) emulsioniert. Die Proben wurden 3 Stunden lang auf 37° gehalten, dann mit kohlensaurem Natron neutralisiert und mit 100 ccm 1-proz. Karbolsäure verdünnt, um eine 5-proz. Emulsion einer Nervensubstanz zu erhalten.

---

1) Nun kann man mit den Immunisationsversuchen fortfahren.

2) Ich danke hier Herrn Prof. Coronedi, der mir freundlichst den natürlichen Magensaft zu diesen Versuchen zukommen ließ.

I. Natürlicher Magensaft.

a) Normale Nervensubstanz vom Lamm.

Versuch am 27. Juni 1907. 5 Ratten, die mit Straßenvirus subkutan infiziert worden waren, erhalten sofort 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer Emulsion von 5 Proz. gesundem Lammhirn, behandelt mit natürlichem Magensaft vom Hunde.

Resultat. Die Tiere bleiben alle am Leben.

Kontrollversuch am 27. Juni 1907. 3 schwarze Ratten wurden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. 2 derselben weisen am 10. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am 11. Juli 4 Uhr nachm. Die 3. weist ebenfalls am 10. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 11. Juli 11 Uhr vorm.

b) Wutnervensubstanz vom Lamm.

Versuch am 27. Juni 1907. 5 schwarze, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten sofort 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer Emulsion von wutkrankem Kaninchenhirn zu 5 Proz. und mit natürlichem Magensaft behandelt.

Resultat. Eins der Tiere wird tot aufgefunden, die Ursachen sind unbekannt, und zwar am 9. Juli 7 Uhr vorm., d. i. nach 13 Tagen. Ein anderes wird ebenfalls am 10. Juli 7 Uhr vorm., also nach 14 Tagen, tot aufgefunden, ein 3. weist am 17. Juli 5 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 18. Juli. Die beiden anderen bleiben am Leben.

II. Künstlicher Magensaft.

a) Normale Nervensubstanz.

Versuch am 27. Juni 1907. 5 schwarze, mit fixem Virus sub cute infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer Emulsion von gesundem 5-proz., mit künstlichem Magensaft behandelten Lammhirn.

Resultat. 1 Tier weist am 13. Juli $4\frac{1}{2}$ Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 15. Juli 7 Uhr vorm. Die anderen 4 bleiben am Leben.

b) Wutnervensubstanz.

Versuch am 27. Juni 1907. 5 schwarze, mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang 2 Einspritzungen einer Emulsion von Wuthirn eines Kaninchens, 5 Proz., behandelt mit künstlichem Magensaft.

Resultat. 1 der Tiere zeigt am 10. Juli 7 Uhr vorm. Paralyse und verendet am 11. Juli 10 Uhr vorm. Die anderen bleiben am Leben.

Schlußfolgerung. Aus den Versuchen geht hervor:

1) daß man keinen Unterschied in der immunisierenden Kraft gegen subkutane Infektionen durch Straßenvirus zwischen der normalen Nervensubstanz vom Lamm und der Wutnervensubstanz vom Kaninchen (fixes Virus), die mit natürlichem wie mit künstlichem Magensafte behandelt wurden, wahrgenommen hat. Ja, während bei den ersten Versuchen mit natürlichem Magensafte alle mit normaler Nervensubstanz behandelten Tiere gerettet wurden, werden nur 2 von den mit Wutsubstanz behandelten gerettet. Von den 3 zu Grunde gegangenen Tieren verendete 1 an Wut und die beiden anderen ohne Lähmung nach 13—14 Tagen.

In der 2. Versuchsreihe mit künstlichem Magensaft war die Wirkung der beiden Tervensubstanzen gleich, insofern als in beiden Fällen 4:5 der Tiere = 80 Proz. gerettet wurden.

2) Es ist außer allem Zweifel, daß der Magensaft teilweise die vaccinierende Wirkung sowohl der normalen, als der Wutsubstanz herabsetzt, und daß die italienische Methode, obwohl sie die französische nicht übertrifft, der meinigen doch nachsteht.

VIII. Immunisierende Kraft der normalen und Wutnervensubstanz, durch den Mund verabreicht.

Da ich einmal die immunisierende Kraft der durch den Mund verabreichten Wutnervensubstanz gegen die Wut festgestellt hatte, hielt ich

es für äußerst wichtig, zu entscheiden, ob dieselbe Wirkung auch der normalen Nervensubstanz eigen sei.

Wenn sich dieses bewahrheitet hätte, so hätte ich aufs entschiedenste bewiesen, daß die ganze immunisierende Kraft des Pasteurschen Impfstoffes fast gänzlich der normalen Nervensubstanz zuzuschreiben ist.

a) Normale Nervensubstanz vom Lamm.

Versuch 1, 26. Nov. 1906. 5 weiße Mäuse wurden 30 Tage lang mit Getreide genährt, welches mit gesundem Lammhirn verknetet wird, so daß jedes Tier täglich 1 g Hirn erhält. Vor dem 30. Tage sterben 3 Mäuse aus unbekannter Ursache.

Am 26. Dez., d. i. am 30. Tage der Behandlung, werden die beiden übrig gebliebenen Mäuse subkutan mit 2 Kontrolltieren mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Die beiden per os mit normaler Nervensubstanz behandelten Mäuse bleiben am Leben, während die beiden Kontrolltiere am 9. Jan. 1907 Lähmung aufweisen und am 10., d. h. nach 12 Tagen, an Wut verenden.

1 der beiden überlebenden und immunisierten Mäuse wird am 25. Jan. 1907 mit fixem Virus infiziert. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2, 10. Jan. 1907. 20 weiße Mäuse werden 30 Tage lang mit Getreide und gesundem Lammhirn genährt, so daß auf jedes Tier täglich 3 g kommen. Am 10. Febr., d. i. nach 30 Tagen, werden alle 20 Mäuse und 5 Kontrolltiere subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Die 20 mit Hirn genährten und immunisierten Mäuse bleiben am Leben, während die 5 Kontrolltiere zwischen dem 20. und 21. Febr. Lähmung aufweisen und am 22. bis 23., also nach 12—13 Tagen, an Wut verenden.

b) Wutnervensubstanz.

Versuch 1, 4. Nov. 1906. 5 weiße Mäuse werden 30 Tage lang mit in Wuthirn von einem Kaninchen verkneteten Getreide genährt (fixes Virus), so daß jedes Tier 2 g Nervensubstanz pro Tag erhält. Am Ende der 30 Tage, am 4. Dez., werden sie subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Nach 20 Tagen werden sie von neuem mit fixem Virus infiziert. Auch diesmal bleiben die Tiere am Leben; sie leben noch am 27. März 1907.

Versuch 2, 4. Nov. 1906. 7 weiße Mäuse werden 30 Tage lang mit in Wuthirn von einem Kaninchen verkneteten Getreide genährt, so daß jede Maus 2 g Nervensubstanz pro Tag erhält. Am Ende der 30 Tage, d. i. am 4. Dez., werden sie subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Am 24. Dez. werden alle mit fixem Virus subkutan geimpft. Auch diesmal bleiben die Tiere am Leben.

Die Infektion mit fixem Virus wird am 30. Dez. wiederholt. Auch jetzt bleiben die Tiere am Leben.

Am 25. Jan. 1907 wird die Infektion mit fixem Virus zum 3. Mal wiederholt. Die Tiere bleiben am Leben; sie lebten noch am 27. März.

Schlußfolgerung. Aus dieser 2. Reihenfolge von Versuchen geht hervor, daß nicht bloß die Wutnervensubstanz, sondern auch die normale, per os eingeführt, fähig ist, die Mäuse sicher gegen eine nachfolgende subkutane Infektion durch Straßen- oder fixes Virus zu immunisieren. In der Tat blieben sämtliche 9 Mäuse, denen 30 Tage hindurch ungefähr 60 g Nervensubstanz verabreicht worden war, und die dann mit Straßenvirus infiziert worden waren, am Leben; sie widerstanden auch ferneren Infektionen mit fixem Virus. Von 24 in derselben Weise, aber mit normaler Nervensubstanz genährten und dann subkutan, teils mit Straßenvirus, teils mit fixem Virus infizierten Mäusen blieben alle am Leben.

IX. Impfkraft der normalen und der Wutnervensubstanz, welche mit 3-prom. Salzsäure behandelt und per os verabreicht wurde.

Ich hielt es von gewisser Bedeutung, den Beweis zu erbringen, ob die vaccinierende Kraft der normalen und der Wutnervensubstanz, per

os verabreicht, der Wirkung der Salzsäure in der größten Konzentration, in welcher sie sich im Magensaft befindet, widersteht oder nicht.

Deshalb unternahm ich folgende Versuche:

a) Normale, mit 3-prom. HCl behandete Nervensubstanz.

Versuch 1, 30. Nov. 1906. 5 weiße Mäuse werden 30 Tage lang mit Getreide genährt, welches mit gesundem Lammhirn zu 50 Proz., 5 Stunden lang mit Salzsäure behandelt und dann mit kohlensaurem Natron neutralisiert worden war. Jedes Tier erhält 3 g gesundes Lammhirn. 1 Tier stirbt nach 13 Tagen aus unbekannten Gründen, die anderen 4 werden am 30. Dez., d. h. nach 30 Tagen, nebst 2 Kontrolltieren subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Die 4 Tiere bleiben am Leben, während die beiden Kontrolltiere am 10. Jan. Lähmung aufweisen und am selben Tage verenden.

Die 4 überlebenden Tiere werden am 25. Januar sub cute mit fixem Virus infiziert und bleiben am Leben.

Versuch 2, 7. Jan. 1907. 20 weiße Mäuse werden 30 Tage lang mit Getreide genährt, welches einer Emulsion von gesundem Lammhirn zu 50 Proz. beigeknetet, mit 3-prom. Salzsäure 5 Stunden lang behandelt und dann mit kohlensaurem Natron neutralisiert wurde. Jedes Tier erhält 3 g Hirn. Am 7. Febr., d. h. nach 30 Tagen, werden 10 von den 20 Mäusen sub cute mit fixem Virus und 10 mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. 6 von den 10 mit fixem Virus infizierten Mäusen weisen zwischen dem 13. und 15. Febr. Lähmung auf und sterben am 14. bis 16., die anderen 4 bleiben am Leben, während die 10 mit Straßenvirus infizierten alle am Leben bleiben.

b) Wutnervensubstanz, mit 3-prom. HCl behandelt.

Versuch 1, 30. Nov. 1906. 5 weiße Mäuse werden 30 Tage lang mit Getreide genährt, welches einer Emulsion von fixem Virus zu 50 Pro. beigemengt, mit 3-prom. Salzsäure 5 Stunden lang behandelt, dann mit kohlensaurem Natron neutralisiert wurde. Jedes Tier erhielt 3 g fixes Virus.

3 der Tiere verenden nach 17 Tagen aus unbekannten Gründen, die beiden anderen werden am 30. Dez., d. i. nach 30 Tagen, nebst 2 Kontrolltieren subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Die beiden immunisierten Tiere bleiben am Leben, die beiden Kontrolltiere weisen am 9. Jan. Lähmung auf und sterben am 10. an Wut.

Am 25. Jan. wurden die beiden überlebenden mit fixem Virus subkutan infiziert und bleiben am Leben; sie lebten noch am 27. März.

Versuch 2, 7. Jan. 1907. 20 weiße Mäuse werden 30 Tage lang mit Getreide genährt, welches einer Emulsion von fixem Virus zu 50 Proz. beigemengt, 5 Stunden lang mit 3-prom. Salzsäure behandelt und dann mit kohlensaurem Natron neutralisiert worden war. Jedes Tier erhält täglich 3 g fixes Virus.

Am 7. Febr., d. h. nach 30 Tagen, werden 10 dieser Tiere sub cute mit fixem Virus und die anderen 10 mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. 2 der mit fixem Virus infizierten Mäuse weisen am 13. Febr. 4 Uhr nachm. Lähmung auf und sterben am 14. Febr. 8 Uhr vorm.

2 andere weisen am 15. Febr. 8 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am selben Tage 7 Uhr abends.

Die anderen 3 bleiben am Leben.

Die 10 mit Straßenvirus infizierten bleiben am Leben und leben noch am 27. März.

Schlußfolgerung. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die mit 3-prom. Salzsäure behandelte und dann mit kohlensaurem Natron neutralisierte normale und Wutnervensubstanz noch die Kraft bewahrt, per os die Mäuse gegen eine nachfolgende subkutane Infektion mit Straßenvirus zu immunisieren, dieselbe aber teilweise verliert bei der Immunisierung gegen die Infektion mit fixem Virus. Während von 10 Mäusen, die 30 Tage hindurch mit der erwähnten Substanz genährt und dann mit fixem Virus infiziert worden waren, nur 3 gerettet wurden, starb von den 10 anderen, auf gleiche Weise genährten, aber mit Straßenvirus infizierten keine einzige.

Ein Unterschied zwischen der normalen und der Wutnervensubstanz wurde also nicht wahrgenommen.

X. Immunisierende Wirkung der normalen und der Wutnervensubstanz, per rectum verabreicht.

Aehnliche Versuche wurden angestellt, indem ich die normale wie die Wutnervensubstanz per rectum einführte. Diese an Ratten vorgenommenen Versuche gaben folgende Resultate:

1) Beim Einführen von 10 ccm täglich einer Emulsion von normaler Nervensubstanz (gesundes Lammhirn), 11—13 Tage lang (im ganzen 110 bis 130 ccm) in das Rektum der Ratten, die dann subkutan mit Straßenvirus infiziert wurden, blieben am Leben 1:4.

2) Bei 2 endorektalen Einspritzungen täglich von je 10 ccm, 20 Tage lang und bei wie oben angegebener Infektion (im ganzen 200 ccm einer Emulsion von frischem fixem Virus zu 10 Proz.) wurden 1 : 3 gerettet.

3) Beim Behandeln der Tiere wie oben, jedoch unter Einführung per rectum von 300 ccm Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz. rettete man 2 : 3.

4) Bei derselben Behandlung von 20, vorher mit Straßenvirus infizierten Ratten, die jedoch, im Gegensatz zu den vorhergehenden Versuchen, mit einer mehr konzentrierten Emulsion, und zwar zu 30 Proz., ausgeführt wurde, indem jede Ratte 300 ccm in 15 Tagen erhielt, starben alle 10 mit normaler Nervensubstanz behandelten Ratten und 9:10 von jenen, die mit Wutsubstanz behandelt worden waren. Beide Emulsionen waren in physiologischer Lösung zubereitet.

Die Zahl dieser Versuche ist zu gering, um Schlußfolgerungen daraus zu ziehen und einen Vergleich zwischen normaler und Wutsubstanz aufstellen zu können, um so mehr, da in diesen Versuchen mit normaler Nervensubstanz von dieser nur $^1/_2$ oder $^1/_3$ der Wutsubstanz verabreicht wurde.

Man kann nur sagen, daß die Verabreichung per viam rectalem der per os bei weitem nachsteht in Bezug auf die immunisierende Wirkung der Nervensubstanz.

(Schluß folgt.)

Ueber den Wirkungsmechanismus des Milzbrandserums: Antiblastische Immunität.

[Aus dem serotherapeutischen Institute Mailand (Direktor: Prof. S. Belfanti).]

Von Privatdozenten Dr. **Alberto Ascoli.**

Mit 2 Tafeln.

Die Schutzwirkung des Milzbrandserums gegen Milzbrand, welche nun sowohl klinisch als experimentell hinreichend begründet sein dürfte (1), wird wohl allgemein auf direkte oder indirekte antibakterielle Eigenschaften des Serums zurückgeführt.

Die Versuche, experimentelle Belege für diese Auffassung zu erbringen, scheinen aber bisher nicht erfolgreich gewesen zu sein.

Das bakterizide Vermögen des von gegen Milzbrand hochimmunisierten Tieren stammenden Serums erwies sich in den Versuchen Sobern-

heims (2) und Sawtschenkos (3) in vitro gegenüber jenem des entsprechenden Normalserums nicht erhöht. Ottolenghi (4) hingegen will eine Beschleunigung und Steigerung der Abtötung virulenter Stämme im Immunserum vom Esel beobachtet haben. Ich selbst habe die Bedeutung der Bakterizidie in der Weise zu ergründen versucht, daß ich das bakterizide Vermögen eines Immunserums vom Esel gegenüber Milzbrandstämmen verschiedener Virulenz bestimmte, da aus meinen früheren Untersuchungen schon hervorging, daß die Schutzwirkung des Serums um so ausgesprochener ist, je abgeschwächter die Milzbrandkultur. Wenn die Bakterizidie zur Schutzwirkung in einem bestimmten Verhältnisse stünde, so hätten die in Tab. I zusammengestellten Ziffern einen gewissen Parallelismus aufweisen müssen.

Tabelle I.

Aufschwemmung einer Oese verschiedener (avirulenter, abgeschwächter und virulenter) Stämme in 5 ccm frischen, von einem stark immunisierten Esel stammenden Serums. Nach Verlauf von 24 Stunden resp. 3 Tagen wird die Keimzählung vorgenommen, indem mit 0,1 ccm dieser Aufschwemmung Platten gegossen werden. Avirulent = tötet das Meerschweinchen nicht; abgeschwächt = tötet zwar das Meerschweinchen, nicht aber das Kaninchen; virulent = tötet Meerschweinchen und Kaninchen.

	Virulenz	Keimzählung nach 1 Tage	Keimzählung nach 3 Tagen
Pasteur I	avirulent	28 000	30 000
„ II	„	200	500
Cienkowski	„	70	2
Merck	„	10	3
Deutsch I	abgeschwächt	40 000	43 000
„ II	„	200	750
Unser Impfstoff	„	400	300
Milzbrand A.	virulent	1 200	1 000
„ B.	„	1 000	700
„ Boll.	„	1 500	40 000
„ Ger.	„	30	20
„ Gab.	„	100 000	100 000
„ Galb.	„	25 000	50 000
„ Germ.	„	16 000	50 000
„ Isol.	„	25 000	40 000
„ Mand.	„	25 000	35 000
„ Mal.	„	12 000	1 200
„ Secco.	„	50 000	60 000

Bindende Schlüsse lassen sich aber wohl überhaupt aus der Bestimmung des bakteriziden Vermögens in vitro mittels Zählung nicht ziehen, da die nicht zu verhütende Vermehrung der Keime im Serum eine genaue Feststellung der abgetöteten Keime nicht gestattet.

Gegen das Bestehen eines Parallelismus zwischen bakterizidem Vermögen in vitro und Schutzwirkung in vivo scheinen mir eher die in Tab. II angeführten Wertbestimmungen zu sprechen, aus denen hervorgeht, daß stark bakterizides Kaninchenserum Meerschweinchen vor Milzbrand nicht, schwächer bakterizides Immunserum vom Esel hingegen ganz ausgezeichnet zu schützen vermag.

Den endgültigen Beweis dafür, daß die aktive Substanz des Milzbrandserums von der bakteriziden zu trennen ist, erbrachte ich erst mittels der elektiven Absorption, indem ich nachwies, daß erstere kein Ambozeptor im Sinne Ehrlichs ist und mithin von den von Bail (5) und Ottolenghi (4) im Serum nachgewiesenen bakteriziden Fixatoren verschieden ist (6).

Tabelle II.

Prüfung der Schutzwirkung von Kaninchenserum nach meiner Wertbestimmungsmethode gegenüber unserem und dem Pasteurschen Impfstoff im Vergleich zum Milzbrandserum eines Esels.

Kaninchenserum	Stamm	Ausgang	Sektionsbefund
4 ccm	Unser Impfstoff	† nach 5 Tagen	Milzbrand
3 „	„ „	† nach 3 „	„
2 „	„ „	† nach 3 „	„
2 „	Pasteurscher Impfstoff	† nach $2^1/_2$ „	„

Milzbrandserum vom Esel	Stamm	Ausgang	Sektionsbefund
4 ccm	Unser Impfstoff	lebt	—
3 „	„ „	„	—
2 „	„ „	„	—
2 „	Pasteurscher Impfstoff	„	—
Kontrolltier	Unser Impfstoff	† nach $2^1/_2$ Tagen	Milzbrand
„	Pasteurscher Impfstoff	† nach 3 „	„

Dies erklärt zur Genüge, warum alle Versuche, eine spezifische Bakterizidie des Milzbrandserums in vitro nachzuweisen, scheiterten und infolgedessen zur Erklärung der Wirkung des Serums andere Hypothesen aufgestellt werden mußten.

Der naheliegende Gedanke, daß der Milzbrandbacillus durch das Serum eine Abschwächung erfahre, scheint mir in den Versuchen von Metschnikoff (7), Sclavo (8), De Nittis (9) und Sanfelice (10) keine besondere Stütze zu finden, zumal die spärlichen positiven Resultate einfach in der Serumart, der Anzahl der Keime u. dergl. ihre Erklärung finden dürften.

Eine Virulenzabnahme wird z. B. bei direkter Uebertragung der Keime (Tab. IIIa) dadurch vorgetäuscht, daß die Anzahl der zugeführten Keime (Tab. VII) weit hinter der tödlichen Minimaldosis zurücksteht, die für den in Betracht kommenden Stamm mehr als 10000 entspricht.

Bei entsprechender Versuchsanordnung hingegen konnte ich in Uebereinstimmung mit Sobernheim (2) bei den darauf gerichteten Untersuchungen weder in vitro (6) noch in vivo (Tab. IIIb) eine Abschwächung des von mir verwendeten Sporenvaccins beobachten.

Tabelle III.

a) Direkte Uebertragung einer Oese unseres Sporenvaccins aus dem Unterhautzellgewebe der Impfstelle von passiv immunisierten in jenes nicht vorbehandelter Meerschweinchen.

Die Uebertragung fand statt	Das mit einer Oese infizierte Meerschweinchen	Sektionsbefund
5 Stunden nach der Impfung	† nach $2^1/_2$ Tagen	Milzbrand
idem	lebt	—
27 Stunden nach der Impfung	„	—
idem	„	—
idem	„	—
idem	„	—
48 Stunden nach der Impfung	„	—
idem	„	—
idem	„	—
idem	„	—

b) Unser aus dem Unterhautzellgewebe passiv immunisierter Meerschweinchen wiedergewonnenes Sporenvaccin tötet in der üblichen Dosis ($^1/_4$ ccm Bouillonkultur) Meerschweinchen ebenso rasch wie vorher.

Der Keim wurde isoliert	Einspritzung von $^1/_4$ ccm Bouillonkultur pro Meerschweinchen	Sektionsbefund
5 Stunden nach der Injektion	† nach $2^1/_2$ Tagen	Milzbrand
idem	† nach $3^1/_2$ „	„
idem	† nach $3^1/_2$ „	„
24 Stunden nach der Injektion	† nach $1^1/_2$ „	„
idem	† nach $1^1/_2$ „	„

Ebensowenig begründet ist auch die von Marchoux (11) und Sclavo (12) vertretene Ansicht, derzufolge das Serum eine stimulierende Wirkung auf die Leukocyten ausüben sollte. Echte Stimuline im Sinne Metschnikoffs, welche, direkt auf die Leukocyten wirkend, deren Abwehrkräfte steigern sollten, konnte ich bei entsprechender Versuchsanordnung (Tab. IV) ebensowenig nachweisen wie spezifische Opsonine nach

Tabelle IV.

Es wurden nach dem von Wright und Hektoen angegebenen Verfahren a) von nicht vorbehandelten, b) von passiv immunisierten Meerschweinchen stammende Leukocyten mit unserem mittels Milzbrandserum vom Esel sensibilisierten Vaccin zusammengebracht.

Die mikroskopische Untersuchung ergab	Bei Verwendung von Leukocyten der normalen Meerschweinchen	Bei Verwendung von Leukocyten der immunisierten Meerschweinchen
nach 15 Minuten	Kontaktwirkung	Kontaktwirkung
nach 1 Stunde	idem	idem
nach 24 Stunden	idem; die Bacillen erscheinen verblaßt	idem; die Bacillen erscheinen verblaßt

Wright (13) oder Bakteriotropine nach Neufeld und Rimpau (14). Im Gegensatz zu Cler (15) fand ich das opsonische Vermögen meines Immunserums gegenüber meinem Sporenvaccin im Vergleiche zum Normalserum nicht erhöht, sondern die fast ausschließlich nachweisbare Kontaktwirkung in beiden Fällen ungefähr gleich (Tab. V).

Meine aus den Absorptionsversuchen abgeleitete Annahme, daß die Fixatoren wie beim Streptokokkenserum [Aronson (16), Besredka (17)]

Tabelle V.

Die Versuche wurden nach Wright und Hektoen in der Weise angestellt, daß a) in einer Versuchsreihe gewaschene, b) in einer zweiten Versuchsreihe einfach zentrifugierte Meerschweinchenleukocyten mit unserem mittels Normalserum resp. Milzbrandserum vom Esel sensibilisierten Vaccin zusammengebracht wurden.

a) Versuche mit gewaschenen Leukocyten.

Die mikroskopische Untersuchung ergab	Bei Sensibilisierung mit Normalserum vom Esel	Bei Sensibilisierung mit Milzbrandserum vom Esel
nach 5 Minuten	Vereinzelte Bacillen und Leukocyten	Vereinzelte Bacillen und Leukocyten
nach 30 Minuten	Leichte Ansammlung von Leukocyten um die Bacillen (Kontaktwirkung)	Leichte Ansammlung von Leukocyten um die Bacillen (Kontaktwirkung)
nach 8 Stunden	Bedeutendere Anhäufung	Bedeutendere Anhäufung
nach 24 Stunden	Anhäufung wie oben, die Bacillen erscheinen verblaßt	Anhäufung wie oben, die Bacillen erscheinen verblaßt

b) Versuche mit ungewaschenen Leukocyten.

nach 5 Minuten	Kontaktwirkung	Kontaktwirkung
nach 30 Minuten	idem und verblaßte Bacillen	idem und verblaßte Bacillen
nach 12 Stunden	Neben dem bereits beschriebenen Befund mehrere Kapselbakterien (Keimlinge)	Neben dem schon beschriebenen Befund mehrere Kapselbakterien (Keimlinge)

für die Schutzwirkung überhaupt nicht in Betracht kommen, findet in diesen Versuchen eine weitere Bestätigung.

Die von Bail (5) befürwortete antiaggressive Wirkung des Serums entbehrt einer experimentellen Unterlage. Die Bailsche Aggressinhypothese fand zwar in den Immunisierungsversuchen mit Milzbrandödem ihren Ausgangspunkt, der Nachweis echter Aggressine beim Milzbrand ist jedoch merkwürdigerweise unterblieben und alle meine Versuche (Tab. VI), mittels Oedemflüssigkeit eine Virulenzerhöhung zu erzielen, scheiterten, so daß auch der Nachweis von Antiaggressinen unterbleiben mußte.

Tabelle VI.

Der Versuch, einen für Mäuse pathogenen Stamm mittels Aggressin für Meerschweinchen virulent zu machen, scheiterte ebenso wie folgender Versuch, zu dem ein an der Grenze der Pathogenität für Meerschweinchen stehender Stamm herangezogen wurde. Beobachtungsdauer 10 Tage.

a) ohne Aggressin.

Gewicht der Meerschweinchen	Anzahl der Keime	Ergebnis	Sektionsbefund
450 g	0,25 ccm Bouillonkultur	†	Milzbrand
250 „	idem	†	„
250 „	„	†	„
150 „	„	lebt	—
350 „	„	„	—
350 „	„	„	—
350 „	„	†	Milzbrand
320 „	„	†	„
350 „	„	†	„
350 „	„	†	„
300 „	1 ccm Bouillonkultur	†	„

b) mit Aggressin.

Gewicht des Meerschweinchens	Anzahl der Keime	Aggressin	Ergebnis	Sektionsbefund
320 g	$^1/_{10}$ ccm Agar	2 ccm	†	Milzbrand
280 „	idem	idem	lebt	—
340 „	0,25 ccm Bouillonkultur	1 ccm	†	Milzbrand
350 „	idem	idem	lebt	—
340 „	„	„	†	Milzbrand
340 „	„	„	lebt	—
340 „	„	„	†	Milzbrand
300 „	„	„	lebt	—

Mithin spricht für spezifische mittelbare oder unmittelbare Beeinträchtigung der Milzbrandbakterien durch das Serum eigentlich nur die nicht zu leugnende Schutzwirkung desselben gegenüber dem Milzbrand, und es drängt sich trotz allem der Zweifel auf, daß in vivo irgendwie eine mikrobizide Wirkung des Serums vermittelt wird. Gegen eine solche Auffassung spricht aber einerseits die Tatsache, daß im immunen Organismus lebende Milzbrandkeime nach der Infektion wochenlang auf-

gefunden werden können [Sobernheim (2), Metschnikoff (18), Marchoux (11)], andererseits das Fehlen einer spezifischen Bakteriolyse beim Pfeifferschen Versuche [Sobernheim (2)].

Eigenen Untersuchungen zufolge (Tab. VII) findet tatsächlich die Zerstörung des Sporenvaccins beim passiv immunisierten Meerschweinchen nur langsam statt und sind lebensfähige Keime an der Impfstelle bis nach 6 Tagen nachweisbar.

Tabelle VII.

Die Zerstörung der Keime wurde in der Weise verfolgt, daß nach verschiedenen Zeiträumen 2 Oesen aus der Sacktasche geholt wurden, von denen die eine zur Zählung, die zweite zur mikroskopischen Untersuchung diente.

Entnahme der Oesen	Bestimmung der Keimzahl	Mikroskopische Prüfung
nach 5 Stunden (am Ohr)	Ungefähr 100 Kolonieen; in Bouillon geringes Wachstum (1088)	Verblaßte kulturelle Bacillen, teilweise von Leukocytenhaufen umgeben, keine Keimlinge
idem	Ungefähr 100 Kolonieen auf Agar (1089)	idem
idem	Ungefähr 100 Kolonieen auf Agar; in Bouillon bedeutenderes Wachstum als bei 1088 (1090)	idem; es sind jedoch auch einige gut erhaltene Formen mit violettem Teint vorhanden
idem	Ungefähr 25 Kolonieen auf Agar; in Bouillon geringeres Wachstum als bei 1088 (1091)	wie 1088
nach 24 Stunden (am Ohr)	Agar steril; in Bouillon nur ein kleiner Milzbrandflocken (1093)	Beinahe ganz verblaßte, teilweise von Leukocytenhaufen umgebene Bacillen
idem	Eine einzige Kolonie (1095)	wie 1093
nach 3 Tagen (an der Achsel)	Einige Kolonieen (639)	—
nach 6 Tagen	8 Kolonieen (608)	—

Gänzlich unhaltbar wird aber die Annahme einer bakteriziden Wirkung des Milzbrandserums in vivo durch den in Tab. VIII angeführten Versuch gemacht, aus dem deutlich hervorgeht, daß die Abtötung der Milzbrandkeime im immunisierten Organismus keine Beschleunigung erfährt. Die eingeführten Bakterien gehen überhaupt stets mit demselben mikro-

Tabelle VIII.

Die Bestimmung der Keimzahl erfolgte wie in Tabelle VII nach Einführung des avirulenten Stammes mittels Entnahme einer Oese aus der Sacktasche am Ohr oder in der Achselhöhle. Die angeführten Zahlen sind das Mittel von den an je 6 immunisierten und nicht immunisierten Meerschweinchen ermittelten.

Die Bestimmung der Keimzahl erfolgte	Anzahl der erhaltenen Kolonieen	
	a) bei normalen Meerschweinchen	b) bei immunisierten Meerschweinchen
24 Stunden nach der Einspritzung	697	1461
55 „ „ „ „	1088	617
3 Tage „ „ „	375	366
$6^1/_2$ „ „ „ „	63	34
$11^1/_2$ „ „ „ „	mehrere	mehrere

skopischen Bilde — geringere Tinktionsfähigkeit und partielle Aufnahme durch Leukocyten — zu Grunde, gleichgültig, ob es sich um die Abtötung von avirulenten Stämmen im normalen oder im immunisierten Tiere oder um die Zerstörung von abgeschwächten Stämmen (Vaccin) seitens des passiv immunisierten Organismus handelt (Taf. I, Fig. 3, Taf. II, Fig. 6 u. 7).

Das Zugrundegehen milzbrandähnlicher Keime erfolgt im normalen Organismus in ungefähr demselben Tempo und mit ähnlichen Bildern, so daß man den Eindruck erhält, als ob sich der Organismus in den erwähnten Fällen des Keimes einfach mittels normaler Einrichtungen entledige; ob letztere zum Teil in den Bakterien selbst zu suchen sind, mit anderen Worten, ob hierbei die von Danysz (19) hervorgehobenen autolytischen Prozesse mitspielen, vermag ich nicht zu entscheiden.

Aus den im Vorhergehenden angeführten Tatsachen ergeben sich demnach folgende rein negative Schlußfolgerungen:

1) Die Wirkungsweise des Milzbrandserums läßt sich weder durch die für andere Sera zu Recht bestehenden Mechanismen noch durch die bisher aufgestellten Hypothesen erklären.

2) Die aktive Substanz des Serums scheidet aus der großen Gruppe der Ambozeptoren oder Fixatoren aus, da sie sich in vitro mit ihrem Antigen nicht verbindet.

3) Das Milzbrandserum beschleunigt weder in vitro noch in vivo die Zerstörung der Milzbranderreger.

* * *

Erst dem methodischen Studium der sich bei passiv immunisierten Tieren an der Impfstelle abspielenden Vorgänge war es vorbehalten, eine spezifische Eigenschaft des Milzbrandserums zu enthüllen.

Wie ich schon gelegentlich der Bekanntgebung meiner Wertbestimmungsmethode des Milzbrandserums am Meerschweinchen vorläufig mitteilte, sammeln sich an der Injektionsstelle der Bakterien nach einiger Zeit Leukocytenhaufen an, die im weiteren Verlaufe sich zu einem harten Knötchen verdichten, das nunmehr fast ausschließlich aus Leukocyten besteht. In den Fällen, wo die Schutzwirkung nicht ausreicht, treten an der Oberfläche der Knötchen hämorrhagische, von zahlreichen Milzbrandbakterien durchsetzte Herde auf, von denen aus die Ueberschwemmung des Organismus mit den nicht mehr einzudämmenden Keimen statthat.

Zur genauen Verfolgung der durch das Milzbrandserum spezifisch beeinflußbaren Vorgänge eignet sich jedoch die bei meiner Methode geübte subkutane Einspritzung von Bouillonkultur nicht besonders.

Die folgenden Untersuchungen wurden deshalb, wie zum Teil auch die im vorigen Abschnitte erwähnten, in der Weise angestellt, daß mittels einer Pfrieme am Ohr oder an der Achsel ein Säckchen gebildet wurde, welches unter Innehaltung der zur Sicherung eines sterilen Operationsfeldes üblichen Vorsichtsmaßregeln mit einer Oese frischer Agarkultur beschickt und hierauf mit Kollodium bedeckt wurde. Zur Entnahme des Materials wurde einfach das Kollodium entfernt, eine Oese eingeführt und hierauf die Sacktasche wieder mit Kollodium verschlossen.

Aelteren Angaben von Koch (20), Deutsch (21) und Sclavo (8) zufolge, die durch Gruber (22), Löhlein (23), Bail (24) und mir (25) bestätigt wurden, treten nach Einführung von Milzbrandbakterien in den

Tierkörper morphologisch veränderte Bakterienformen auf, die von den auf gewöhnlichen Nährböden gezüchteten bedeutend abweichen. Erstere, welche als zweite Generation oder auch als tierische Kapselbakterien angesprochen wurden, sind bei gleicher Vergrößerung dicker und zeigen bei Methylenblaufärbung einen mehr violetten Ton des von einem rosafarbenen Hof umgebenen Bakterienkörpers (Taf. II, Fig. 5), während letztere, welche kurz auch als kulturelle Formen bezeichnet werden, dünne, unter Umständen von einem farblosen Hofe umgebene Stäbchen oder Reihen bilden, die mit Methylenblau eine blaue Farbe annehmen (Taf. I, Fig. 1).

Die erwähnten Veränderungen wurden entweder als Degenerationserscheinungen aufgefaßt [Sclavo (8)] oder in dem Sinne eines Schutz- oder Abwehrmechanismus der Bakterien gegen die schädlichen Einflüsse des Organismus gedeutet [Deutsch (21), Gruber (22), Löhlein (23)].

Da aber ähnliche Formen bei Züchtung von Milzbrand in Blutserum oder Ascites zu beobachten sind (Taf. I, Fig. 2), dürfte darin eher der Ausdruck eigenartiger Stoffwechselvorgänge des Bacillus anthracis auf dem gebotenen Nährboden zu erblicken sein. Tatsächlich zerfallen denn auch diese künstlichen Kapselbakterien, vorausgesetzt, daß sie von einem abgeschwächten Stamme herrühren, im ausreichend immunisierten Meerschweinchen trotz ihrer Panzerbildung ähnlich wie die entsprechenden kulturellen Formen.

Dementsprechend fasse ich auch die im Tierkörper auftretende metachromatische Reaktion nebst Kapselbildung abweichend von Gruber nicht als eine Resistenzerhöhung gegen die bakteriziden Kräfte der Säfte und Phagocyten auf, sondern vielmehr als spezifische, mit dem Anpassungsvermögen der Bakterien eng verknüpfte Prozesse, aus deren genauem Studium einige zur Klärung des Virulenzbegriffes und des Wirkungsmechanismus des Milzbrandserums wichtige Tatsachen sich ergeben haben.

Wie ich schon am vorjährigen Pathologenkongresse mitzuteilen und zu demonstrieren Gelegenheit hatte (25) und vor kurzem von Gruber (26), Preisz (27) und Stiennon (28) bestätigt wurde, steht das Auftreten oder Ausbleiben der erwähnten Veränderungen der Keime im Tierkörper mit ihrer Virulenz im innigsten Zusammenhange.

Die eigenartigen Keimlinge treten nämlich bei Meerschweinchen, wie ich in meinem Vortrage am vorjährigen Kongresse schon hervorhob, nach subkutaner Einführung sowohl vollvirulenter als auch abgeschwächter für Kaninchen nicht mehr pathogener Stämme (Vaccine) auf, während sie nach Einführung von avirulentem Milzbrand in das Unterhautzellgewebe ausbleiben.

In beiliegenden Tafeln sind die 3 Bilder aufgezeichnet, die man nach Einführung der 3 Stämme, des vollvirulenten, des abgeschwächten (Vaccine) und des avirulenten, beim normalen Meerschweinchen zu Gesicht bekommt.

Der vollvirulente Milzbrand (Taf. II, Fig. 5) ist durch das frühzeitige Auftreten zahlreicher Kapselbakterien gekennzeichnet, während ihnen gegenüber die kulturellen Formen mit geringerem Tinktionsvermögen und die Phagocytose mehr zurücktreten.

Der abgeschwächte Milzbrand (Taf. I, Fig. 4) weist zwar noch zahlreiche animale Keimlinge auf, doch treten auch die kulturellen degenerierten und phagocytierten Bakterien schon mehr hervor.



Beim avirulenten Milzbrand (Taf. I, Fig. 3) bleiben die tierischen Formen entweder ganz aus oder sie werden wenigstens durch die degenerierten oder von Leukocyten aufgenommenen Bakterien ganz in den Hintergrund gedrängt.

Gehen wir nunmehr zu dem Verhalten der nach der von mir angegebenen Methode passiv immunisierten Meerschweinchen über.

Der abgeschwächte Stamm, welcher bei normalen Meerschweinchen (Taf. I, Fig. 4) die mehrfach erwähnten Veränderungen (Kapselbildung, violette Färbung mit Methylenblau) einzugehen vermochte, behält beim immunisierten Tiere vorerst sein kulturelles Aussehen bei, im weiteren Verlaufe weist er ein geringeres Tinktionsvermögen auf und wird teilweise von Leukocyten aufgenommen (Taf. II, Fig. 7).

Das Bild, welches beim erfolgreich immunisierten Tiere zur Beobachtung gelangt, erinnert stark an jenes, welches beim normalen Tiere nach Einführung eines avirulenten Stammes angetroffen wurde. Dementsprechend überwindet das immunisierte Tier innerhalb der Fehlergrenzen meiner Wertbestimmungsmethode die Infektion mit dem abgeschwächten Stamme, so daß das verhinderte Auftreten der Kapselbakterien als der morphologische Index einer spezifischen Wirkung des Milzbrandserums aufzufassen ist.

Vor dem virulenten Stamme vermag das Serum nach meiner Methode Meerschweinchen nicht zu schützen; im Einklange damit versagt auch die dem Auftreten der Kapselbakterien entgegenarbeitende Serumwirkung. Ebensowenig ist bei ungenügender Immunisierung das Serum im stande, die eigentümliche Keimung der Bakterien und den tödlichen Ausgang zu verhüten (Taf. II, Fig. 8).

Das wichtigste und beständigste Ergebnis ist eben der stets nachweisbare Parallelismus zwischen schützender und keimwidriger Wirkung des Serums.

Demnach darf wohl behauptet werden, daß das Milzbrandserum den Organismus in der Weise schützt, daß es jene Prozesse hemmt, welche die Ansiedlung des Milzbrandbakteriums im Tierkörper kennzeichnen: Das Milzbrandserum scheint als spezifischer Paralysator der in den eigenartigen Keimlingen zum Ausdrucke kommenden Stoffwechselvorgänge zu wirken.

Meine Auffassung wird durch das Fehlschlagen der Versuche, die Erscheinung mit Hilfe von Serum oder Plasma in vitro zu erzielen, nicht erschüttert, hingegen spricht die sofortige Aktivierung des Serums im Organismus für seine direkte Beteiligung an unserem Phänomen.

Der Anthrakozidie durch Blutplättchen, Phagocyten u. dergl., auf welche Gruber (26) das Hauptgewicht legt, käme meinen Untersuchungen zufolge eine ganz nebensächliche, sekundäre, nicht spezifische Rolle zu.

In Uebereinstimmung mit Danysz (19) fasse ich das Zugrundegehen der Bakterien als eine Folge der Hemmung gewisser Assimilationsvorgänge auf, lasse aber die Frage offen, ob die Abtötung durch die normalen Abwehrkräfte des Organismus oder durch autolytische Prozesse erfolgt.

Der Brennpunkt liegt meinen Untersuchungen zufolge in den der Bildung der Keimlinge zu Grunde liegenden Assimilationsprozessen: Diese sind es ausschließlich, welche den Ausgang der Infektion bestimmen und durch das Milzbrandserum in spezifischer Weise beeinflußt werden.

Jedenfalls zwingen uns die angeführten experimentellen Befunde, die herrschende Hypothese einer bakteriziden Wirkung des Milzbrandserums

aufzugeben und eine antiblastische (βλάστη = Keimling) Immunität als den maßgebenden Faktor bei dem Wirkungsmechanismus des Milzbrandserums in vivo anzusprechen.

Literatur.

1) Ascoli, A., Zur Wertbestimmung des Milzbrandserums. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LV.)
2) Sobernheim, Immunität bei Milzbrand. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV. p. 811.)
3) Sawtschenko, Contribution à l'étude de l'immunité. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.)
4) Ottolenghi, Sopra alcune proprietà del siero anticarbonchioso. (Atti R. Accad. Fisiocritici. 1904. Seduta 26 marzo.) — Di alcune proprietà del siero anticarbonchioso. (Ibid. 1906. No. 7.)
5) Bail, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV.)
6) Ascoli, A., Sulla sostanza attiva del siero anticarbonchioso. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLVIII. 1906.)
7) Metschnikoff, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. I.
8) Sclavo, Sulla preparazione del siero anticarbonchioso. (Riv. d'Igiene e san. pubbl. 1896.)
9) De Nittis, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901.
10) Sanfelice, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1902.
11) Marchoux, Sérum anticharbonneuse. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895. No. 11.)
12) Sclavo, Sullo stato presente della sieroterapia carbonchiosa. (Atti R. Accad. Fisiocritici. Siena. Serie 4. Vol. XV.)
13) Wright u. Douglas, Proc. Royal Soc. London. Vol. LXXIII. 1904. Siehe auch Sauerbeck, Neue Immunitätstheorien. (Lubarsch u. Ostertags Ergebnisse. 1906.)
14a) Neufeld u. Rimpau, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LI. 1905.
14b) Neufeld u. Bickel, Ueber cytotoxische und cytotrope Serumwirkungen. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XXVII. 1907. Heft 2.)
15) Cler, Intorno a qualche proprietà del siero anticarbonchioso Sclavo. (Giorn. R. Accad. Med. di Torino. 1905. No. 5—6. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1905.)
16) Aronson, Weitere Untersuchungen über Streptokokken. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. p. 439.)
17) Besredka, Le sérum antistreptococcique et son mode d'action. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1904. p. 363.)
18) Metschnikoff, Fortschritte der cellulären Immunitätslehre. (Lubarsch und Ostertags Ergebnisse. 1906.)
19) Danysz, Immunisation de la bactéridie charbonneuse contre l'action du sérum du rat. Formation et nature des „anticorps". (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIV. 1900.)
20) Zitiert nach Babes, Metachromatische Körperchen etc. bei pathogenen Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 420.)
21) Deutsch u. Feistmantel, Impfstoffe und Sera. Leipzig (Georg Thieme) 1903.
22a) Gruber, Ueber Infektion und Resistenz beim Milzbrand. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. Beilage.)
22b) Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 7.
23) Löhlein, Einiges über Phagocytose von Pest und Milzbrandbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. Beilage.)
24) Bail, Morphologische Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 43.)
25) Ascoli, A., Sul meccanismo d'azione del siero anticarbonchioso. (Quarta Riunione dei patologi italiana Pavia. Ottobre 1906. Ref. Biochem. Centralb. Bd. V. 1906. Heft 18.)
26) Gruber, Weitere Mitteilungen über die Resistenz gegen Milzbrand. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 39.)
27) Preisz, Ueber das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVI. Heft 3.)
28) Stiennon, Sur les conditions de formation de la gaine du Bacillus anthracis. (Compt. rend. de la soc. de biol. T. LXII. 1907. No. 15.)

Tafelerklärung.

Fig 1. Milzbrandbakterien auf Agar (kulturelle Formen).
Fig. 2. Milzbrandbakterien in flüssigem Serum (Keimlinge).
Fig. 3. Avirulenter Stamm im Unterhautzellgewebe des normalen Meerschweinchens.
Fig. 4. Abgeschwächter Stamm (Vaccine) im Unterhautzellgewebe des normalen Meerschweinchens.
Fig. 5. Virulenter Stamm im Unterhautzellgewebe des normalen Meerschweinchens.
Fig. 6. Avirulenter Stamm im Unterhautzellgewebe des passiv immunisierten Meerschweinchens.
Fig. 7. Abgeschwächter Stamm (Vaccine) im Unterhautzellgewebe des passiv immunisierten Meerschweinchens.
Fig. 8. Virulenter Stamm im Unterhautzellgewebe des passiv immunisierten Meerschweinchens.

Zur Geschichte der Typhusschutzimpfung des Menschen.

Erwiderung gegen E. Friedberger.

Von **A. E. Wright.**

Wenn bei der Typhusschutzimpfung Verdienste vorliegen sollten, so wären diese meines Erachtens lediglich in der praktischen Einführung dieses Schutzverfahrens in größerem Maßstabe, in dem so mühseligen Zusammenbringen der statistischen Resultate und in dem Ersinnen von Methoden zur genauen Messung des Vaccins und des erzielten Schutzes zu suchen. Friedberger sieht hier aber anders. Es kämen hier in Betracht nur die zwei ersten Laboratoriumsversuche. Die Ehre, diese unternommen zu haben, gebühre seinem Chef, Richard Pfeiffer, und seinem Mitarbeiter Kolle. Und es wäre hierbei zu bedauern, daß die „ungenauen Angaben" des Verfassers dieses Briefes „falsche Vorstellungen über die Priorität in der Frage der Typhusschutzimpfung erweckt haben". Es handelt sich um folgende Angaben:

In meinem Buche Kurze Abhandlung über Antityphusinokulation steht p. 16, 17 — und zwar als unwichtig in einer Fußnote — folgender Passus: „Kurz nach Erscheinen einer Publikation, in der ich über 2 Fälle von Typhusimmunisierung bei Menschen berichtete (Lancet. 1896. 14. Sept.), veröffentlichte auch Pfeiffer in Gemeinschaft mit Kolle (Dtsche med. Wochenschr. 1896. 12. Nov.) zwei gleichartige Versuche."

In demselben Buche in dem beigegebenen Literaturverzeichnis lautet es (p. 72) bei der Anführung der oben zitierten Arbeit: „In dieser Arbeit, welche die lokale Wirkung bei Typhusimpfung inter alia behandelt, sind die zwei ersten Versuche von Antityphusinokulationen am Menschen veröffentlicht."

Ueber diese Angaben äußert sich nun Friedberger folgendermaßen:

„Die Lektüre der Wrightschen Arbeit (Lancet. 1896. Vol. II. p. 807. 14. Sept.) zeigt leider, daß diese Angaben ungenau sind und über die Priorität in der Frage der Typhusschutzimpfungen falsche Vorstellungen erwecken können."

„Als ein Mittel zur Erzeugung subkutaner seröser Hämorrhagieen mit Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes erwähnt Wright dabei die subkutane Injektion der Typhusbacillen."

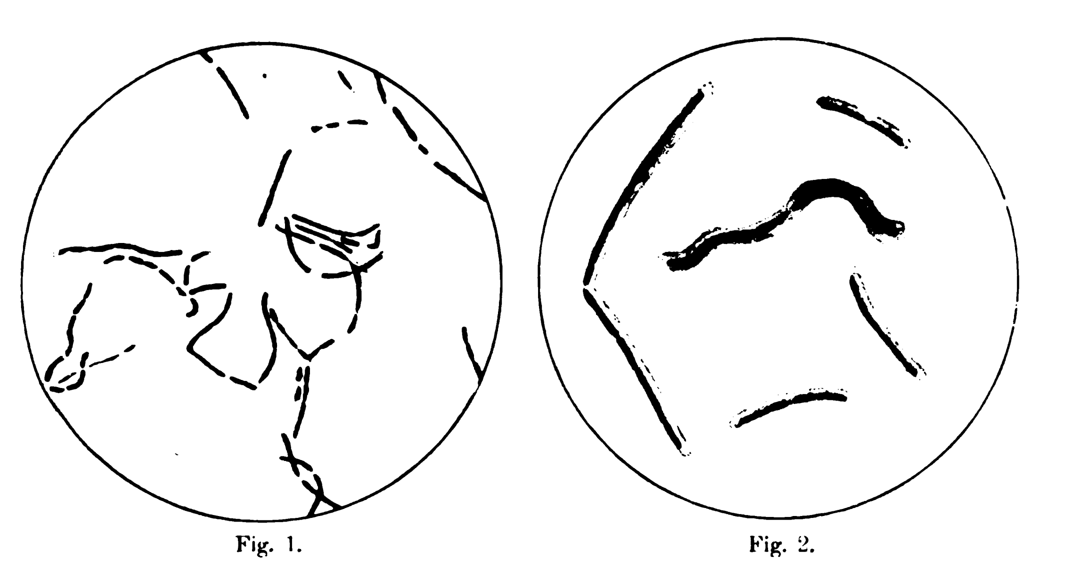


Fig. 1.

Fig. 2.

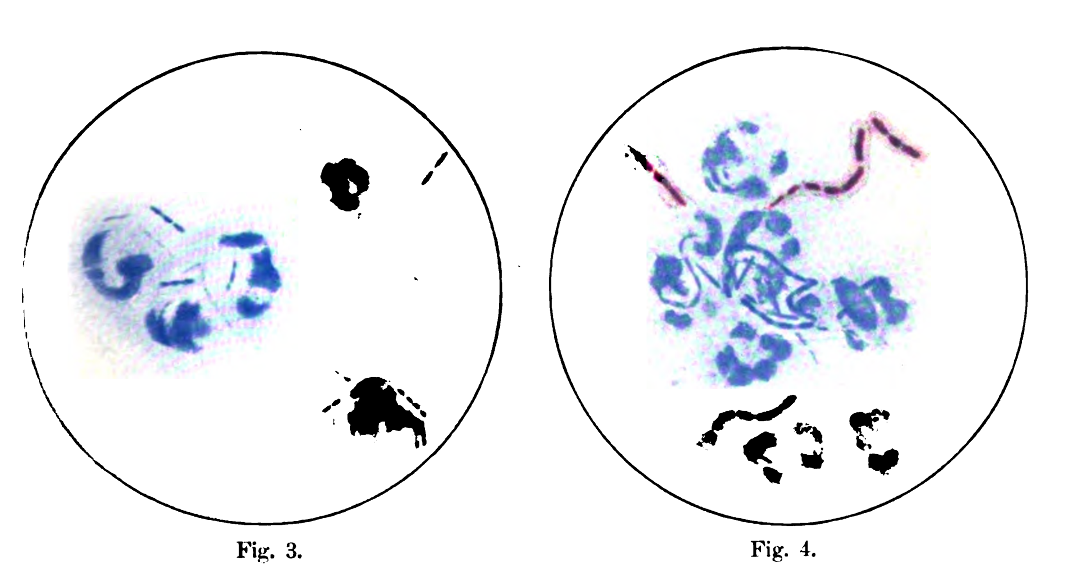


Fig. 3.

Fig. 4.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

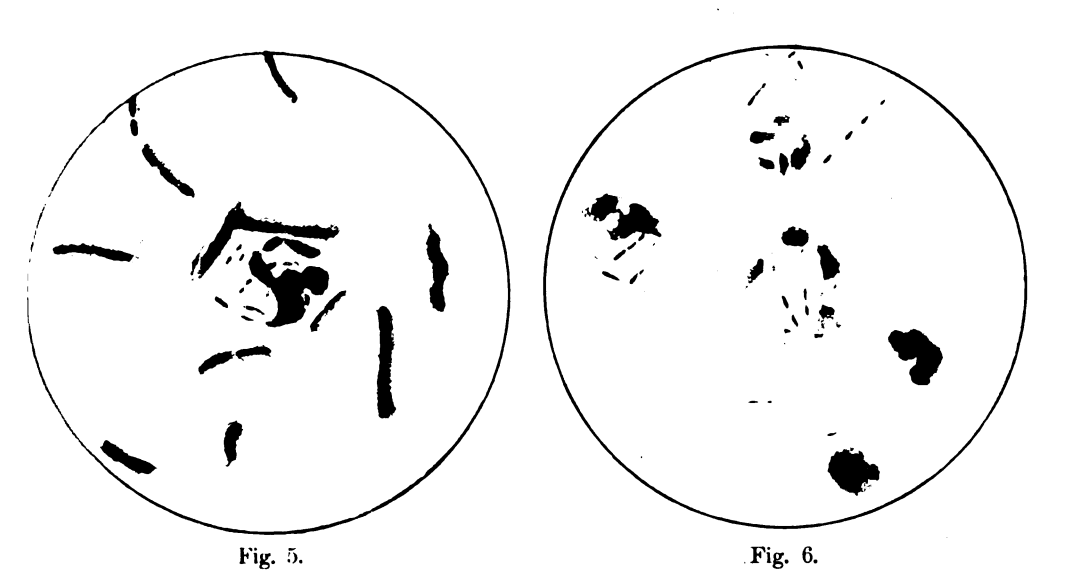


Fig. 5.

Fig. 6.

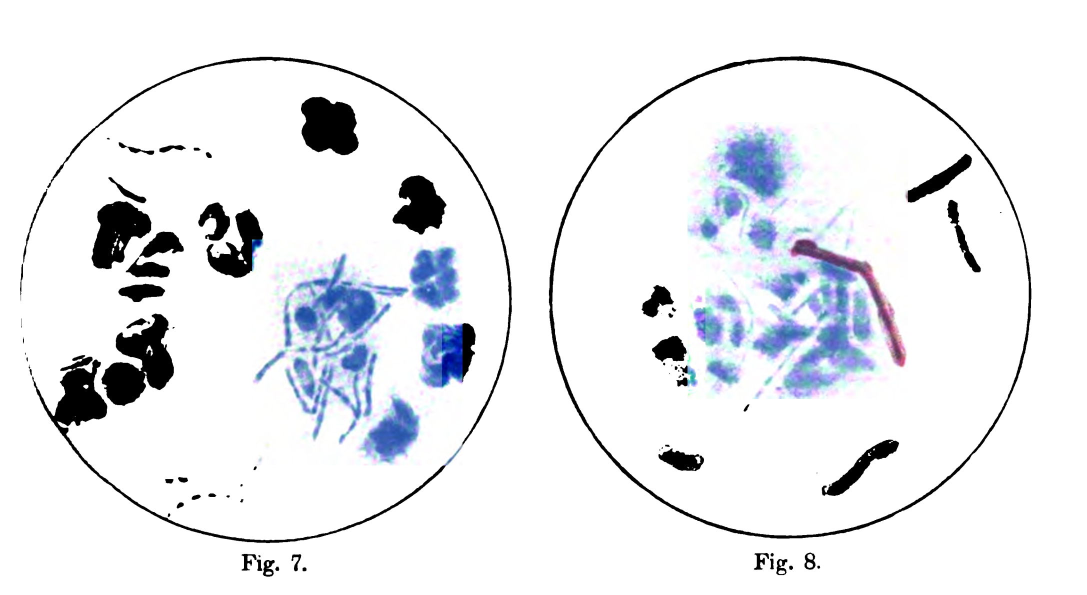


Fig. 7.

Fig. 8.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

„Irgend einer Beziehung derartiger Injektionen zur Schutzimpfung wird von Wright auch nicht mit einem Worte Erwähnung getan."

„Es ist deshalb nicht recht verständlich, wieso Wright in seinem Buche diese beiden Versuche als „zwei Fälle von Typhusimmunisierung beim Menschen" anführt und auf Grund dessen die Priorität in der Frage der Typhusschutzimpfung beansprucht."

„Die Tatsache, daß er zu irgend welchen Zwecken, die mit der Immunisierung resp. Schutzimpfung absolut nichts zu tun haben, tote Typhusbacillen Menschen subkutan injizierte, berechtigt keineswegs zu dieser Auffassung."

„Von Antityphusimmunisierung kann vielmehr erst dann die Rede sein, wenn die Injektion in der Absicht erfolgte, dem betreffenden Individuum durch diese Prozedur einen Schutz zu verleihen und namentlich dann, wenn noch als Folge der Injektion das gehäufte Auftreten jener spezifischen Substanzen im Blutserum konstatiert wurde, die auch in der Rekonvaleszenz bei Typhuskranken auftreten."

„Die ersten, welche die subkutane Injektion von Typhusbacillen ausgesprochen zum Zwecke der Typhusschutzimpfung ausführten, waren Pfeiffer und Kolle."

„Nach dem, was ich oben über den Inhalt der Arbeit im Lancet. 1906 mitgeteilt habe, beschäftigt sich diese Abhandlung nicht hauptsächlich (primarily), sondern ausschließlich mit der Frage der serösen Hämorrhagie, und es ist zu bedauern, daß die Darstellung Wrights zu einer falschen Auffassung in der Prioritätsfrage für jeden, dem der Lancetartikel nicht zugänglich war, führen mußte."

„Durch meine Darlegungen ist die Priorität Pfeiffers und Kolles in der Frage der Typhusschutzimpfung wohl unzweideutig erwiesen."

Die eigentliche Sachlage ist folgende:

Wenn meine allerersten Experimente über Typhusschutzimpfung bei Menschen in einer Abhandlung über seröse Hämorrhagie und deren Behandlung zur Veröffentlichung gekommen sind, so findet dieses seine Erklärung in der Tatsache, daß bei Typhusschutzimpfungen die lokale Anschwellung gerade das peinlichste ist. Es lag mir daran, im voraus diesen Uebelstand bei der Typhusschutzimpfung möglichst zu beseitigen. Hier waren also zweckbewußte und zweckmäßige Vorstudien zu einer ausgedehnten Anwendung der Typhusschutzimpfung.

Wenn Friedberger „jeden, für den der Lancetartikel nicht zugänglich wäre", ausdrücklich warnt, daß hier „nicht mit einem Worte von Schutzimpfung Erwähnung getan ist", und daß meine „Injektionen von toten Typhusbacillen zu Zwecken, die mit der Immunisierung resp. Schutzimpfung absolut nichts zu tun hatten", vorgenommen worden sind, so würde es für seine Zurückweisung wohl genügen, hier zu betonen, daß die beiden Versuche, von denen hier die Rede ist, in meiner Abhandlung (Lancet. 1896. 14. Sept.) unter der ausschlaggebenden Rubrik „Anti-typhoid Vaccination" angeführt worden sind. Weiß doch jedes Schulkind, geschweige jeder Fachmann, daß Vaccinationen zu immunisatorischen Zwecken und nicht etwa zur willkürlichen Erzeugung schmerzhafter seröser Hämorrhagieen unternommen werden.

Es kommt noch hinzu, daß die betreffenden Impfungen vorgenommen worden sind an zwei jungen Militärärzten (M. D. und J. S.), die nach Indien abkommandiert waren, und die für sich einen Schutz gegen die dortige Typhusgefahr suchten. Es handelte sich also hier, wie Friedberger verlangt, um „Injektionen, die in der Absicht erfolgten, den betreffenden Individuen einen Schutz zu verleihen".

Der weiteren Forderung Friedbergers gemäß war bei dem einen Patienten (der andere mußte schon vorzeitig abreisen) „noch als Folge der Injektion das gehäufte Auftreten jener spezifischen Substanzen im Blutserum, die auch in der Rekonvaleszenz bei Typhuskranken auftreten", konstatiert. Die Agglutinationswerte, die hier durch die Schutzimpfung erzielt wurden, sind später in meiner tabellarischen Zusammen-

stellung untergebracht (siehe Brit. med. Journ. 1907. 30. Jan. Tabelle, Experiment 1 unter den Anfangsbuchstaben M. D.).

Schließlich kommt noch das Moment, daß (wie aus derselben Tabelle ersichtlich ist) die Resistenz dieses Patienten (M. D.) nach 3-facher erfolgter Inokulation mit toten Agarkulturen durch eine subkutane Injektion lebender Typhuskulturen erprobt worden ist. Da der Patient gar keine Gesundheitsstörung von dieser Prozedur davongetragen hat, ist hier der Beweis geführt, daß Immunisation von mir nicht nur versucht, sondern erzielt worden ist. Alles, was hier angeführt worden ist, war, wie aus den Daten in der Tabelle ersichtlich ist, schon vor dem Erscheinen der Pfeiffer-Kolleschen Arbeit abgeschlossen.

Bemerkungen zu obigen Erwiderungen.

Von **E. Friedberger.**

Meine früheren Ausführungen (dieses Centralbl. Bd. XLIV. Heft 6), gegen die sich Wright hier wendet, handelten über die Priorität bei der Typhusschutzimpfung des Menschen. Die Diskussion über die Frage, die Wright in dieser Erwiderung aufrollt, wer um die praktische Einführung und den weiteren Ausbau des Schutzimpfungsverfahrens das größere Verdienst hat, scheint für die Frage der Priorität ganz irrelevant; zudem habe ich in meiner Publikation „die großen Verdienste, die sich Wright durch die Einführung der Typhusvaccination in der englischen Armee ... durch seine unausgesetzten Bemühungen um Gewinnung eines ausgedehnten statistischen Materials erworben hat“, ausdrücklich hervorgehoben und auch schon früher (in einer im Handbuch von Kraus-Levaditi erscheinenden Zusammenfassung) in jeder Weise anerkannt. Das hat aber mit der Prioritätsfrage nichts zu tun, und ich muß auch nach den vorstehenden Ausführungen von Wright in allen Punkten meine Behauptung aufrecht erhalten, daß die einzige vor der Arbeit von Pfeiffer und Kolle erschienene hierhergehörige Publikation von Wright nicht über Typhusschutzimpfung handelt und folglich nicht, wie das durch Wright wiederholt geschehen ist, als Beleg für seine Priorität in der Frage der Typhusschutzimpfung herangezogen werden kann.

Diese Arbeit befaßt sich, wie ich noch einmal betonen möchte, ausschließlich mit dem Zusammenhang zwischen serösen Hämorrhagieen und Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes und deren Beeinflussung durch Chlorcalciumdarreichung. (Titel: „On the association of serous haemorrhages with condition of defective blood-coagulability“.)

Von Typhusbacillen wird darin nicht mehr gesagt, als daß durch die subkutane Injektion toter Typhusbacillen die Gerinnungsfähigkeit des Blutes herabgesetzt werde und daß sie durch Darreichung von Chlorcalcium, das zugleich einen günstigen Einfluß auf das entstehende Oedem zeigt, wieder gesteigert werden könne.

(„As an example of what can be done in controlling serous haemorrhage I may subjoin the following protocols of experiments which show that the serous haemorrhage, wich is associated with the hypodermic inoculation of typhoid bacilli can be controlled by the exhibition of calcium

chloride.") Es werden diesbezügliche Protokolle von einem Pferd und 2 Versuchspersonen mitgeteilt.

Daß diese Veröffentlichung Wrigths über die Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes durch Frostbeulen, Urticaria, gewisse Diarrhöeformen und auch durch die subkutane Injektion toter Typhusbacillen, mit der Frage der Typhusschutzimpfung einen Zusammenhang haben könne, wird wohl kaum einem damaligen Leser des Lancet-Aufsatzes jemals in den Sinn gekommen sein, ja nicht einmal, daß — wie Wright heute sagt — die Untersuchungen „als zweckbewußte und zweckmäßige Vorstudien zu einer ausgedehnten Anwendung der Typhusschutzimpfung" zu betrachten sind: es ist nämlich von alldem in dem Aufsatz mit keiner Silbe Erwähnung geschehen, nur wird darauf hingewiesen, daß die günstige Beeinflussung der Oedeme durch Chlorcalcium dieses Mittel bei der Haffkineschen Choleraschutzimpfung empfehlenswert erscheinen lasse.

Nun sagt Wright heute: Es ist selbstverständlich, daß Vaccinationen beim Menschen immer zu immunisatorischen Zwecken geschehen „und nicht etwa willkürlich zur Erzeugung schmerzhafter seröser Hämorrhagieen unternommen werden".

Das mag im allgemeinen ja zutreffen; aber wenn jemand ausdrücklich nur sagt, daß die Injektionen die Herabsetzung der Blutkoagulabilität zeigen sollen, ist die dabei gänzlich verschwiegene Tatsache, daß die Injektionen zugleich auch zu immunisatorischen Zwecken ausgeführt sein sollen, keineswegs so selbstverständlich, „daß jedes Schulkind, geschweige jeder Fachmann" es wissen müßte, um so weniger, als diese Impfungen gar nicht, wie Wright das jetzt behauptet, in der Abhandlung Lancet. 1896. 19. Sept. „unter der ausschlaggebenden Rubrik" „Anti-typhoid vaccination" angeführt worden sind, sondern einfach als „Typhoid-vaccinations" bezeichnet werden.

Bei der untergeordneten Bedeutung der Frage, welche den alleinigen Titel und Inhalt dieser Arbeit bildet und bei der eminent hohen praktischen wie theoretischen Wichtigkeit und Tragweite, die die Typhusschutzimpfung beanspruchen darf, hätte man wohl erwarten dürfen, daß Wright zumal in seiner ersten Arbeit, in der er über Typhusinokulationen berichtet, etwas eingehender auch die Frage der Typhusschutzimpfung behandelt hätte, wenn die Arbeit sich überhaupt mit dieser Frage beschäftigen sollte.

Das geschieht aber erst in späteren Publikationen, die nach den von Pfeiffer und Kolle erschienen sind. Und wenn Wright heute über die Umstände, unter denen die ersten Impfungen erfolgt sind, nähere Angaben macht und auf die späteren Veröffentlichungen hinweist, in denen diese Fälle ja tatsächlisch als Schutzimpfungen aufgezählt werden, so erscheint das hier gänzlich überflüssig.

Es handelt sich in der Prioritätsfrage doch nicht darum, ob die Versuche zum Zweck der Schutzimpfung vor den von Pfeiffer-Kolle mitgeteilten angestellt, sondern ob sie vorher als solche veröffentlicht waren.

Wenn Wright schließlich heute an der Prioritätsfrage nur ein mäßiges Interesse zu haben scheint, so ist das wohl nicht immer so gewesen.

Die Tatsache, daß er selbst noch einmal bei Aufzählung des Lancetartikels im Literaturregister seines Buches (eine doch nicht ganz gewöhnliche Form) darauf hinweist, daß er hier die ersten Fälle von Typhus-

schutzimpfung am Menschen veröffentlicht habe und die gleichfalls ungewöhnliche ausdrückliche Bemerkung in einer $2^1/_2$ Monate nach der Arbeit von Pfeiffer und Kolle im Brit. med. Journ. erschienenen Aufsatz, daß ein Abdruck jener Arbeit an Pfeiffer gesandt wurde („A reprint of this paper was sent among others to Prof. Pfeiffer") sprechen nicht dafür. Gerade diese an sich unmotiviert scheinenden Bemerkungen mußten zu irrigen Auffassungen über die Priorität in der Typhusschutzimpfungsfrage Veranlassung geben.

Königsberg, 25. Nov. 1907.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Ueber Swellengrebels Chromatinbänder in Spirillum volutans.

[Aus dem kgl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky).]

Von Prof. Dr. **E. Zettnow.**

Vor einigen Monaten hat Swellengrebel (1) eine Arbeit veröffentlicht, in welcher er nicht nur bei Spirillum volutans, sondern auch bei Spirochaete balbianii bisher noch nicht bekannte Zickzack- und Spiralbänder chromatischer Substanz beschreibt; sie lassen sich, wie er (p. 3 und 4) angibt, sowohl in lebenden, ungefärbten Spirillen bei gemäßigter Beleuchtung beobachten, wie besser in durch Methylenblau oder nach Heidenhain gefärbten Präparaten zur Darstellung bringen.

Da ich trotz vielfacher Beschäftigung mit den großen Spirillen derartige Bilder, wie er sie von Spirillum volutans gezeichnet hat, niemals gesehen habe, weder bei den lebend mit Methylenblau gefärbten Spirillen, noch in Präparaten verschiedenster Färbung, so habe ich Herrn Swellengrebel um Uebersendung einiger Präparate gebeten. Er hat in liebenswürdigster Weise meinen Wunsch erfüllt, und ich habe mich überzeugt, daß seine Zeichnungen genau seinen Präparaten entsprechen. Da die zuerst gesendeten Präparate, von 5-tägiger Kultur angefertigt, fast nur lange Spirillen enthielten, sich auch an einzelnen Stellen Kristallausscheidungen befanden und ich infolgedessen die Präparate für nicht völlig beweiskräftig erachtete, so hat er bereitwilligst ein Präparat von ganz junger, 24 Stunden alter Kultur mir übersendet und ich habe mich überzeugt, daß auch in letzterem Präparat neben Spirillen mit unregelmäßig verteilten Chromidien in Kugelform, wie ich solche als normal betrachte, auch eine große Anzahl mit Zickzackbändern vorhanden ist; am auffälligsten und für mich am überzeugendsten war eine Teilungsform, in welcher die eine Hälfte Chromidien in Kugelform, die andere ein schönes Spiralband zeigte.

Ich für meinen Teil war durch dieses Präparat von dem Vorhandensein spiraliger Bänder überzeugt; anderer Meinung jedoch war Herr Dr. Hartmann, welchem ich die Präparate zeigte; er erklärte, daß mangelhafte Fixierung die Ursache für das Auftreten der Spiralbänder sei.

Unter solchen Umständen habe ich mich veranlaßt gesehen, selbst einige Versuche anzustellen, da ich Höllings (2) Meinung (p. 666) nicht beipflichten kann; dieser ist der Ansicht, daß Swellengrebels Kultur durch die lange Fortzüchtung „einer dauernden Plasmolyse anheimgefallen“ wäre. Ich habe zu meinen Versuchen sowohl die von Herrn Dr. Hölling isolierte frische, wie eine wahrscheinlich von Kutscher herstammende, seit 1902 auf gewöhnlichem Agar gezogene, alte Kultur benutzt, ohne einen Unterschied zwischen beiden zu bemerken.

I. An erster Stelle habe ich lebende Spirillen bei allmählich zunehmender Färbung durch Methylenblau beobachtet. Zunächst färben sich nach 1—3 Minuten die Chromidien; weiterhin, wenn diese schon kräftig gefärbt erscheinen, nimmt das Entoplasma einen blaugrauen Schein an; mit steigender Färbung des letzteren wird die alveoläre Struktur immer besser sichtbar; hierauf beginnt die Bewegung der

Spirillen nachzulassen, schließlich liegen sie scheintot oder wirklich abgestorben, ziemlich kräftig gefärbt in dem farblosen Untergrund da, ohne Bewegung.

Niemals habe ich während dieser ganz allmählich zunehmenden Färbung irgend eine stärkere Tinktion von Band- oder Spiralform beobachtet.

II. Da Swellengrebels Präparate nach Heidenhain gefärbt sind, weil diese Art der Färbung ihm die besten Resultate gegeben hat und die Präparate in Kanadabalsam sich halten, ohne zu verblassen, so lag die Möglichkeit vor, daß eine derartige, auf Vorbeizung mit Eisenalaun beruhende Methode gewisse Teile des Entoplasmas stärker färbt als Methylenblau allein, und daß infolge davon die spiralige Anordnung erst sichtbar wird; ferner konnte seine Methode der Fixierung durch Eintragen des Materials unmittelbar in das käufliche 35—40-proz. Formalin die Ursache für die Bildung der Bänder sein.

Ich übertrug daher einige Oesen einer 24 Stunden alten Kultur in 35-proz. Formalin und stellte von dieser Flüssigkeit folgende Präparate her:

A. Eine Oese voll wurde in so stark verdünntes Methylenblau übertragen, daß die Färbung nur allmählich eintrat, und nun mikroskopiert.

B. Ein Ausstrich wurde an der Luft eingetrocknet, dann auf einen Tropfen Metylenblau gelegt und beobachtet.

C. Mehrere Ausstriche wurden an der Luft getrocknet und hierauf in der Flamme in üblicher Weise fixiert; hierbei entwichen deutlich erkennbar weiße Formalindämpfe. Von diesen fixierten Ausstrichen wurde je einer

a) auf verdünnte Methylenblaulösung gelegt, mikroskopiert,
b) wie a), dann in Balsam eingeschlossen,
c) nach Heidenhain gefärbt und 20 Stunden in violetten Eisenalaun $2^1/_2$-proz. Lösung; 48 Stunden in Hämatoxylin; hierauf in 1-proz. Eisenalaun unter dem Mikroskop differenziert.

Bei keinem dieser Präparate habe ich die Quer- oder Spiralbänder beobachtet; im Heidenhain-Präparat befinden sich Spirillen mit sehr verschieden starker Färbung des Entoplasmas; es sind alle Uebergänge von völliger Entfärbung bis zu ziemlich kräftiger Färbung desselben vorhanden; Bänder waren jedoch nicht zu sehen.

Auch bei Wiederholung der Versuche mit einer 10 Tage alten Kultur waren die Resultate fast dieselben; nur trat in diesen Präparaten eine Anzahl Spirillen auf, wie ich (3) solche in meinen Veröffentlichungen bereits beschrieben habe; am häufigsten sah ich Formen, welche an das „Spirillum leucomelaenum“, welches früher als eigene Art beschrieben wurde, erinnerten.

Würde die Färbung nach Heidenhain ein schwierige sein, ähnlich wie die Geißelfärbung, so würde ich nicht anstehen, zu erklären, daß meine geringe Uebung in dieser von mir nur selten benutzten Art der Färbung schuld an dem Mißlingen der Darstellung von Chromatinbändern wäre. Da dies jedoch nicht der Fall ist, das Material sogar absichtlich bei und nach der Fixierung in steigendem Maße ohne besondere Sorgfalt behandelt ist und dennoch Präparate geliefert hat, welche von den im lebenden Zustande beobachteten kaum verschieden sind, so muß der Grund für das Auftreten von Spiralbänden in Herrn Swellengrebels Präparaten ein anderer sein, als ich vermutet habe. In Kenntnis meiner Versuche hat er mir geschrieben, daß auch er die Gründe nicht angeben

könne, weshalb wir nach anscheinend derselben Art der Arbeit nicht zu denselben Resultaten gekommen wären.

Ich hoffe, daß durch die vorstehenden Angaben eine größere Anzahl von Forschern sich veranlaßt sieht, die nicht viel Zeit in Anspruch nehmenden Versuche Swellengrebels zu wiederholen, und bin bereit, etwa fehlende Kulturen von Spirillum volutans zu übersenden.

Literatur.

1) Swellengrebel, Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXI. 1907 Juillet.)
2) Hölling, Spirillum giganteum und Spirochaete balbianii. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLIV. p. 665.)
3) Zettnow, Bilder von Spirillum Undula majus bei freiwilligem Absterben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XIX. 1896. p. 177.)

Eine Diphtheridee und eine Streptothrix mit gleichem blauen Farbstoff, sowie Untersuchungen über Streptothrix-arten im allgemeinen.

[Aus dem hygien. Institut in Kiel (Geheimrat Prof. Dr. B. Fischer).]

Von Privatdoz. Dr. **Reiner Müller**, 1. Assistenten am hyg. Institute.

Mit 16 Photogrammen [1]).

Im Mai 1904 fand ich auf einer Loeffler-Serumplatte eine durch einen schwachgrauen Hof auffallende Einzelkolonie. Der Nährboden hatte zur Kultur eines diphtherieverdächtigen Mandelbelages gedient und dann einige Tage bei Zimmertemperatur gestanden. Es bleibt unentschieden, ob der Keim aus dem Mandelbelage oder aus der Luft stammt. Bei den folgenden Untersuchungen stellte sich heraus, daß es sich um eine „Diphtheridee" (Babes 1889) handele. Uebertragungen auf verschiedene Nährböden zeigten, daß Kartoffeln und Milch himmelblau gefärbt wurden, Agar und Gelatine dagegen nicht.

Im Mai 1905 fand ich in einem unbenutzten Kartoffelröhrchen eine wohl aus der Luft stammende Streptothrix-Kolonie mit intensiv blauem Hofe. Auch sie bildete auf den meisten anderen Nährböden keinen solchen Farbstoff. Der blaue Farbstoff erwies sich als gleich dem des genannten Bakteriums.

I. Bacterium coelicolor.

Morphologie. Zu den Verwandten des Diphtherieerregers rechne ich das Bakterium, weil es sich um unbewegliche, gut nach Gram färbbare, sporenlose Stäbchen handelt, bei denen sich manchmal V-Formen und Parallellagerung finden. Nur ganz vereinzelt sah ich Kolbenformen, so einigemal auf Kartoffeln, die bei 36° gehalten worden waren. Verzweigungen sah ich einigemal in älteren bei Zimmerwärme gehaltenen Milchkulturen. Die Neissersche Körnchenfärbung gelang nur bei vereinzelten Stäbchen, bei diesen aber bisweilen recht schön. Vom Diphtherie-

1) Die Bilder waren zum Teil in der Ausstellung des 14. internationalen Hygienekongresses 1907.

bacillus und von den meisten der sogenannten Pseudodiphtheriebacillen unterscheidet sich Bacterium coelicolor schon dadurch, daß es auf den meisten Nährböden kürzere Formen bei ungefähr gleicher Dicke bildet; auf einigen, wie Agar und Loeffler-Serum, sind die meisten so kurz, daß es oft schwer ist, die ovoiden Formen von Kokken zu unterscheiden, jedoch sieht man besonders in jungen Kulturen viele Stäbchen, die zwei- bis dreimal solang wie breit sind. Noch längere Formen sah ich einigemal auf Gelatine, ferner auf bei 36° gehaltenen Kartoffeln.

Allgemeine Kulturmerkmale: Bacterium coelicolor wächst gut bei Zimmerwärme (15—20°) und auch bei 36°. Die Kulturen leben lange; durch Watteparaffinverschluß[1]) gegen Austrocknung geschützt, meist über ein Jahr. Das Stäbchen ist sehr sauerstoffbedürftig; in der Tiefe der Nährböden wächst es für gewöhnlich gar nicht. Der blaue Farbstoff entsteht nie bei 36° (s. unten); bei 22—25° wird er anscheinend etwas besser gebildet als bei Zimmertemperatur. Wo nicht besonders angegeben, handelt es sich im folgenden um Kulturen, die bei Zimmertemperatur gehalten wurden.

Gelatinenährböden: Ziemlich saftiges Wachstum. Der Nährboden wird langsam verflüssigt. Leicht saure Reaktion oder Glycerinzusatz hemmen deutlich, Traubenzucker fördert das Wachstum. Die verflüssigte Gelatine wird schleimig fadenziehend.

Agarnährböden: Grauweißer, breiiger, feuchtglänzender Belag, darin vielfach kleine Kristalle. Glycerinzusatz begünstigt das Wachstum nicht. Die Kulturmasse wird dadurch zäher und gestattet mit der Nadel lange, etwas elastische Fäden abzuheben. Alte Traubenzuckeragarkulturen sind zäh, gummiartig. Zusatz von 5 Proz. Kochsalz schädigt nicht sehr wesentlich das Wachstum. Auf Endos Natriumsulfit-Milchzuckerfuchsinagar war auffallenderweise bei wiederholten Versuchen kein Wachstum zu erzielen.

Bouillon: Mäßige Trübung, kein Häutchen an der Oberfläche; aber besonders in Taubenzuckerbouillon bei anderen Kulturen oben am Glasrande ringförmiges Wachstum, von dem aus fädige Massen in die Tiefe flottieren.

Milch: Am 3.—4. Tage, bisweilen sogar erst nach etwa 10 Tagen tritt eine blaue Färbung bis etwa 1 cm unter die Oberfläche auf. Die Stärke der Färbung schwankt bei verschiedenen Milchproben. Nach einigen weiteren Tagen verfärbt sich der Nährboden gelbbraun, wird aber bald oben wieder blau, wenn er durchgeschüttelt wurde. Allmählich wird die Milch aufgehellt. Gerinnung tritt nicht ein, auch nicht bei 30°. — Auch in Milchagar (1:1) tritt bei Plattenkulturen eine schön blaue Farbe auf, die nach mehreren Tagen ins Gelbbraune umschlägt.

Kartoffeln: Manchmal schon nach 14 Stunden, meist aber erst nach 2—3 Tagen, färbt sich die Umgebung des Impfstriches lichtblau, die Bakterienmasse selbst dagegen ist gar nicht besonders stark gebläut. Der Nährboden wird allmählich ganz von der blauen Farbe durchsetzt, jedoch bei den einzelnen Kartoffelstücken verschieden stark. Nach 8 bis 14 Tagen tritt auch hier eine gelbbraune schmutzige Verfärbung ein. Das Wachstum ist meist so üppig, daß die breiige Masse vom Nährboden herunterfließt. Auf Glycerinkartoffeln sind Wachstum und Farbstoffbildung geringer. Möhren und Runkelrüben werden nicht blau.

Chemische Leistungen: In Bouillon und Peptonwasser wird Indol gebildet. — Peptonisierende Enzyme verflüssigen langsam die Ge-

1) Centralb. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 519.

latine und das Loefflersche Serum. — Hämoglobin wird nicht verfärbt oder zerstört, daher auf Blutagarplatten keine Hofbildung. — Die Bildung des blauen Farbstoffes ist als eine Reaktion auf bestimmte Bestandteile der betreffenden Nährböden aufzufassen (s. unten). Peptonwasser wird meergrün gefärbt. — Eingehender wurde die Säurebildung aus Kohlehydraten geprüft. Hierzu versetzte ich 10 ccm 3-proz. Agars mit $1^1/_2$ ccm einer 10-proz. Lösung des Kohlehydrates in Lackmustinktur, kühlte auf 60° ab und fügte noch 5 ccm gleichwarme Ascitesflüssigkeit hinzu und goß die Mischung in Petri-Schalen aus. Bacterium coelicolor erzeugte nun bei 36° gehalten auf derartigen Platten mit Saccharose, Dextrose, Lävulose oder Glycerin eine starke Rotfärbung. Es ist wohl eine Spaltung des Saccharosemoleküls in Dextrose und Lävulose durch Invertase anzunehmen. Die Rötung machte nach einigen Tagen infolge von Alkalibildung wieder einer blauen Farbe Platz. Säure wurde nicht gebildet aus: Erythrit, Arabinose, Adonit, Isodulcit, Dulcit, Mannit, Galaktose, Maltose, Laktose, Raffinose, Dextrin, Inulin, Amylum solubile.

Tierversuche: Intraperitoneale, subkutane sowie intracardiale Einspritzung selbst größerer Kulturmengen führte keine Infektion oder Intoxikation bei Meerschweinchen herbei. Ich versuchte auch vergeblich durch Vorbehandlung eines Meerschweinchens ein agglutinierendes Serum zu erzeugen.

II. Streptothrix coelicolor.

Zum Stadium der morphologischen Eigenschaften der Streptothrix-Arten habe ich ein besonderes Verfahren angewandt: Die Züchtung in dünner Nährbodenschicht. Dazu führte mich folgende Beobachtung: Ein Röhrchen mit schräg erstarrtem Traubenzuckeragar hatte ich mit Diphtheriebacillen geimpft, mit paraffiniertem Wattepfropfen verschlossen und etwa 10 Monate bei Zimmerwärme aufbewahrt; Fig. 1 zeigt nun, wie unterhalb des Propfens eine Streptothrix ausgekeimt ist, die sich dann bis zur Mitte des Röhrchens ausgebreitet hat. Das Wachstum ist aber nicht gleichmäßig rasenartig; denn der kreidige Belag bildet konzentrische Ringe, und dazwischen sind Lücken ohne kreidigen Belag. In der dünnen, bei der Herstellung des schrägen Röhrchens am Glase haften gebliebenen Nährbodenschicht war also die Streptothrix gewachsen, und der Watteparaffinverschluß hatte eine zu starke Austrocknung verhindert.



Fig. 1. Eine Streptothrix in dünner Nährbodenschicht am Glase eines Traubenzuckeragarröhrchens. Vergr. 1,8 : 1.

Durch diese Beobachtung aufmerksam gemacht, fand ich bald, daß auch andere Streptothrix-Arten in dünnen Nährbodenschichten solche Ringe bilden.

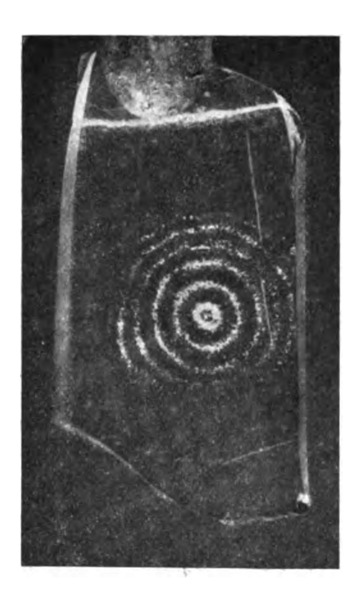


Fig. 2.

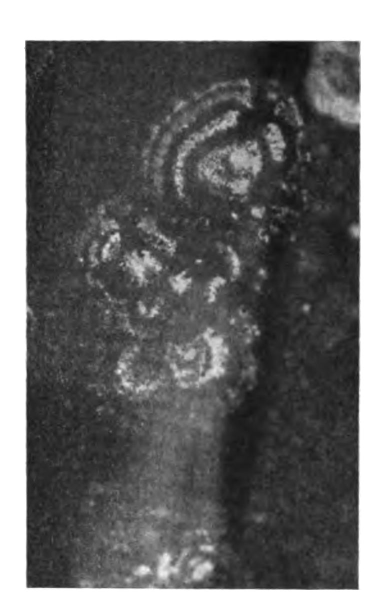


Fig. 3.

Fig. 2. Ringkolonie von Streptothrix coelicolor am Glase eines Kartoffelröhrchens. Vergr. 3 : 1.

Fig. 3. Ringkolonie von Streptothrix coelicolor am Glase eines Kartoffelröhrchens. Vergr. 5 : 1.

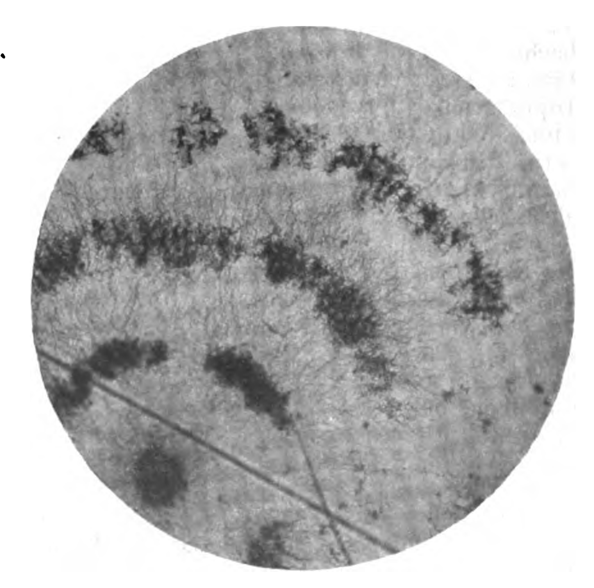


Fig. 4. Ringkolonie von Streptothrix coelicolor, nach Gram gefärbt. Vergr. 45 : 1.

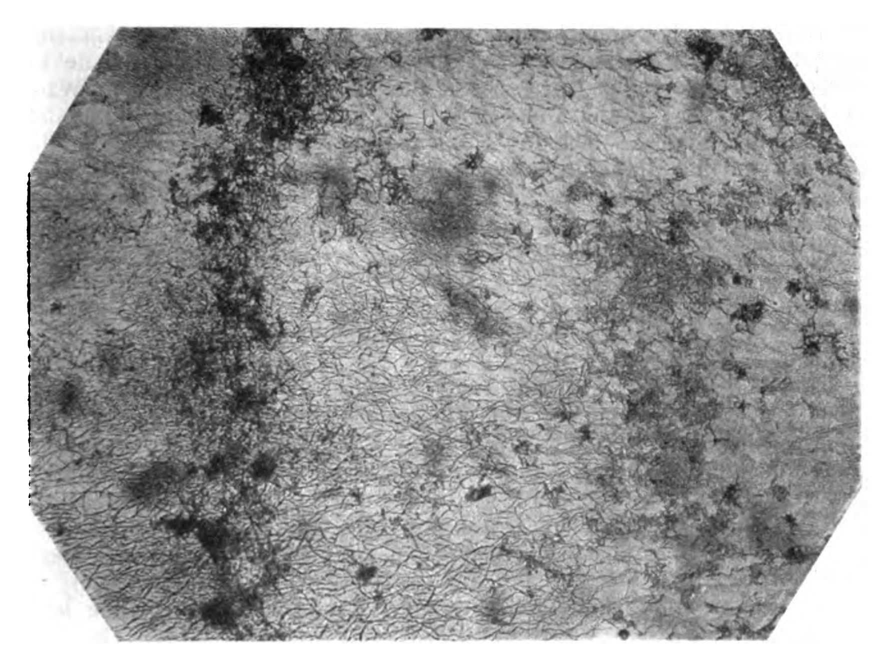


Fig. 5. Ringkolonie von Streptothrix coelicolor; Teile zweier Ringe und die sie verbindenden radialen Fäden, ungefärbt. Vergr. 90 : 1.

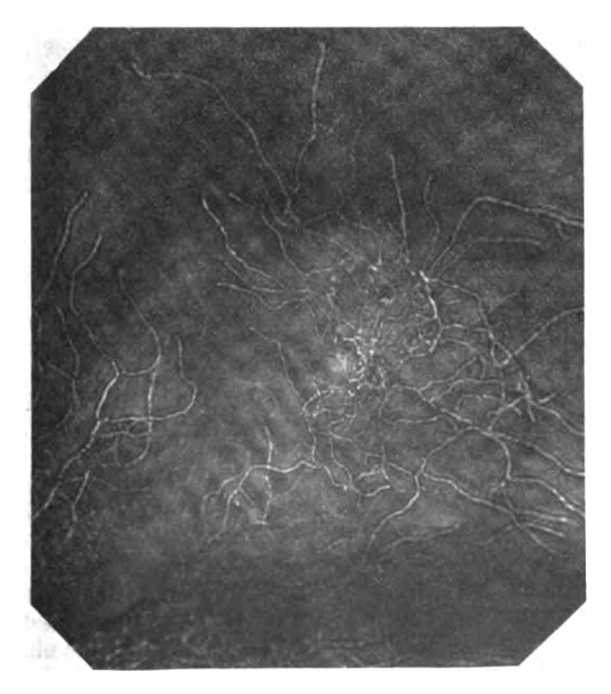


Fig. 6. Streptothrix coelicolor in dünner Traubenzuckeragarschicht auf einem Deckglas, lebend, ungefärbt. Vergr. 500 : 1.

Am Glase der Kartoffelröhrchenkulturen der hier zu beschreibenden Streptothrix coelicolor sah ich derartige oft recht zierliche konzentrische Ringkolonieen, gewachsen in der dünnen Schicht von Wasser und Kartoffelsaft, die bei der Bereitung am Glase haften bleibt. Die Figg. 2 und 3 zeigen solche in 3- und 5-facher Größe. Fig. 4 zeigt ebenfalls eine solche Ringkolonie mit dem Diamanten aus dem Röhrchen herausgeschnitten und nach Gram gefärbt bei 45-facher Vergrößerung; dabei bildet der kreidige Belag dunkle Ringe, zwischen denen radial Fäden verlaufen. Die Randteile dieses Bildes sind wegen der Wölbung des Glases so unscharf. Fig. 5 zeigt ein ähnliches Bild, aber von ungefärbter Kultur bei 90-facher Größe.

Diese Ringkolonieen suchte ich nun auch künstlich und auf ebenen Glasflächen zu erzeugen.

Zuerst feuchtete ich sterile Deckgläschen auf einer möglichst dünnen Schicht an durch Auflegen auf flüssigen Traubenzuckeragar und Abtropfenlassen. Ich beimpfte diese Fläche in der Mitte mit kreidigem Belage und legte sie auf die Höhlung eines abgeflammten hohlgeschliffenen Objektträgers. Von 6 solchen Kulturen wuchsen 2, aber ringförmiger kreidiger Belag wurde nicht gebildet, da sie bald aufhörten zu wachsen. Doch eigneten sich diese Kulturen gut zur Untersuchung bei starker Vergrößerung. Fig. 6 gibt bei 500-facher Größe (photographiert mit Zeiss Apochromat 2 mm Oelimmersion) Randteile einer solchen lebenden ungefärbten Kolonie wieder.

Dann benutzte ich Deckel von Blockschälchen, die ich durch Abbrennen in der Bunsenflamme keimfrei machte. Auch diese legte ich mit einer Fläche auf heißen flüssigen Traubenzuckeragar, hob sie sofort wieder ab und ließ abtropfen. Die benetzte Fläche beimpfte ich in der Mitte und legte sie auf das Blockschälchen, worin vorher zur Erzielung einer feuchten Kammer auch etwas von dem Nährboden gegossen war. Von 5 derartigen Kulturen verdarben 3 durch Ueberwucherung mit anderen Keimen oder Austrocknung; 2 zeigten das in den Figg. 7, 8 und 9 abgebildete Wachstum. — Weiterhin konnte ich auch bei anderen Streptothrix-Stämmen und bei 2 Actinomyces-Stämmen (hominis und bovis) solche Ringkolonieen erzielen.

Solche Kolonieen in dünner Nährbodenschicht, die sich ja nahezu in einer Ebene ausbreiten, lassen sich mit dem Mikroskope besser übersehen, als gewöhnliche Plattenkulturen. Bei durchfallendem Lichte und enger Blende sieht man bei 50—100-facher Vergrößerung die Ringe des kreidigen Belages als dunkle, fast schwarze Massen, an deren Rande man schon bei dieser schwachen Vergrößerung erkennt, daß sie aus fädchenartigen Gebilden bestehen, die selbst dort, wo sie einzeln stehen, so dunkel aussehen. Zwischen den kreidigen Ringen verlaufen radial die feineren Fäden, die als vegetative Formen den Frucht- und Dauerformen, die den kreidigen Belag bilden, gegenüberzustellen sind. Diese verschwinden für das Auge, wenn man die Blende völlig öffnet, während selbst einzelstehende Fädchen gut sichtbar bleiben, was Fig. 10 erkennen läßt.

Betrachtet man endlich derartigen kreidigen Belag im auffallenden Licht — ich benutzte Bogenlicht — so sieht man diese im durchfallenden Lichte fast schwarzen Fädchen jetzt schneeweiß, auch die einzelstehenden. Daraus folgt, daß die weiße Farbe des kreidigen Belages dadurch hervorgerufen wird, daß seine Elemente, jene Fädchen das Licht an ihrer frei in die Luft ragenden Oberfläche sehr stark reflektieren und viel weniger

durchtreten lassen. Nicht teilen kann ich also die Meinung Neukirchs[1]), der von diesen Lufthyphen sagt: „Die kleinen Luftzwischenräume, die sie voneinander trennen, vielleicht auch der Umstand, daß sie oft aus inhaltlosen Sporenreihen bestehen, lassen sie als trockner kreidiger Belag



Fig. 7. 35 Tage alt.



Fig. 8. 75 Tage alt.

Figg. 7 u. 8. Streptothrix coelicolor in dünner Traubenzuckeragarschicht auf Blockschälchendeckel in natürl. Größe.



Fig. 9. Streptothrix coelicolor in dünner Traubenzuckeragarschicht auf Blockschälchendeckel, 35 Tage alt. Vergr. 5 : 1.

erscheinen"; ist doch auch jedes einzelnstehende dieser Fädchen im auffallenden Lichte bei stärkerer Vergrößerung weiß und nicht etwa glasartig durchsichtig wie die Schneekristalle, in die die Lichtstrahlen eindringen und dann bei der totalen Reflexion an den Luftzwischenräumen die weiße Farbe erzeugen. Ich halte es für möglich, daß das starke

1) Neukirch, H., Ueber Strahlenpilze. [Diss.] Straßburg 1903.

Glänzen dieser Lufthyphen von einer fettigen Beschaffenheit der Oberfläche herrühre; denn der kreidige Belag ist mit Wasser sehr schwer benetzbar; auch waren diese Fädchen im durchfallenden Lichte viel durchsichtiger, wenn ich sie mit einem mit Lanolin bestrichenen Deckgläschen abgeklatscht hatte. Neuerdings hat ja auch Deycke[1]) aus seiner Lepra-Streptothrix ein Fett, das Nastin, extrahiert.

Die Streptothrix-Ringkolonie entsteht also ähnlich dem Rasen der Schimmelpilze so, daß ein Keim (Luftspore) auf einer dünnen Nährbodenschicht strahlenartig angeordnete Fäden (Hyphen) aussendet; der zur Streptothrix-Gruppe gehörige Aktinomyces hat ja seinen Namen von solcher radialen Anordnung. Diese Fäden liegen innerhalb



Fig. 10. Zentraler Ring einer Kolonie von Streptothrix coelicolor in dünner Traubenzuckeragarschicht auf Petri-Schalendeckel; lebend; ungefärbt; in durchfallendem Lichte. Vergr. 100 : 1.

des Nährbodens und erweitern durch ihr Spitzenwachstum den Umfang der Kolonie immer mehr. Bald beginnt die Bildung des kreidigen Belages, und zwar entweder wie in den Figg. 4 und 13 in der Mitte, oder wie in der den Figg. 2, 10 und 11 die Mitte freilassend sofort schon als Ring. Von ihm durch eine Lücke getrennt, entsteht einige Tage später der nächste Ring. Das Mikroskop zeigt das Zustandekommen dieses kreidigen Belages genauer: Die Lufthyphen entstehen nicht etwa an der Peripherie, sondern die Spitzen der radialen Fädchen sind meist schon dort, wo sich später der folgende kreidige Ring bilden wird, oder noch weiter, wie in Fig. 13. Zuerst sieht man, im durchfallenden Lichte bei offener Blende, dunkle Punkte und bakterienartige Stäbchen über die Oberfläche hervorragen; blendet man ab,

1) Deycke, Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 2214 u. 2404.

so erkennt man bei Anwendung der Mikrometerschraube, daß sie Zweige der im Nährboden radial verlaufenden, vegetativen Fäden sind. Sie verzweigen sich bei ihrem Wachtum in der Luft, und zeigen anfangs keine Differenzierung ihrer Leibessubstanz; später aber sieht man mit stärkerer Vergrößerung eine Zerschnürung in kokkenartige Gebilde, Streptokokken vergleichbar oder den Fruchtformen von Oidium. Auch im auffallenden Bogenlichte sah ich diese Zerschnürung, wobei jedes einzelne Kügelchen weiß aufleuchtete (Zeiss-Apochromat 16 mm, Komp.-Okular 12). Auch liegen einzelne solche kokkenartige Gebilde auf dem Nährboden verstreut. Man hält sie ja für Frucht- und Dauerformen, und mehrere Forscher beschreiben ihre Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen und gegen Austrocknung. Jedenfalls bleiben sie jahrelang keimfähig; so konnte ich eine 4 Jahre alte Kultur von Streptothrix nigra noch



Fig. 11. Streptothrix coelicolor auf Serumagar, 15 Tage alt. Natürl. Größe.

gut überimpfen und auch die schon $2^1/_2$ Jahre alte Ausgangskultur meiner Streptothrix coelicolor lebt noch. Kürzlich berichtete Berestneff[1]), daß ihm sogar nach 10 Jahren die Uebertragung von Streptothrix violacea gelungen sei.

Warum bilden sich nun diese Ringe, oder mit anderen Worten, warum kommen in den Lücken dazwischen keine Lufthyphen an die Oberfläche? Zunächst entstehen Ringe nicht ausschließlich auf dünnen Nährbodenschichten. Ich goß Serumagar (1:2) und Glykogenagar (1-proz.) in gewöhnlicher Weise in Petri-Schalen. Auf der Oberfläche dieser Nährböden hat Streptothrix coelicolor auch solche Ringe, wie die Fig. 11 zeigt; und zwar entsteht hier meist nur ein Ring — bei Zimmerwärme nach ungefähr 8 Tagen — ohne daß ein zentraler Belag

1) Berestneff, Ueber die Lebensfähigkeit der Sporen von Strahlenpilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Atb. I. Ref. Bd. XL. 1907. p. 298.)

vorher sichtbar wäre; ein solcher entsteht erst später oder gar nicht. Weil also nun in vielen Fällen, wie in den Figg. 2, 10 und 11 zu sehen ist, schon der erste kreidige Belag Ringform aufweist, kann man nicht etwa sagen, daß die Ringe deswegen entständen, weil der Nährboden im Bereiche der Lücke durch den vorhergegangenen Belag für die Luftsporenbildung ungeeignet gemacht worden sei, etwa durch Nährstoffentziehung oder durch Absonderung hemmender Stoffe. Ich habe mir die Sache folgendermaßen zurechtgelegt: Luftsporen bilden sich erst, wenn die vegetativen Fäden ein gewisses Alter (von mehreren Tagen) erreicht haben, denn sie finden sich nicht an der äußersten Peripherie. Wenn aber die vegetativen Formen die Nährstoffe aufgebraucht haben, so bildet sich kein kreidiger Belag. Fig. 11 zeigt auf dem dichtesten Wachstum überhaupt keinen. Hier war also schon in den ersten Tagen der Nährboden von dichtem Mycel durchwuchert worden, und dadurch wurde, so vermute ich, dieser erschöpft, ehe die Fäden das Alter erreicht hatten, um kreidigen Belag bilden zu können. Am Rande dieser dichtesten Wachstumszone sieht man aber in Fig. 11 kreidigen Belag, denn hier könnten, gemäß meiner Vermutung, von außen her Nährstoffe hinzudiffundieren.

Auch bei Schimmelpilzen sind die Fruchtformen manchmal in ganz entsprechenden Ringen angeordnet. Die Fig. 12 zeigt eine Ringkolonie bei einem schokoladefarbenen Schimmelpilz, eine Luftverunreinigung auf einer Traubenzuckeragarplatte. Ich weiß nicht, ob dies schon beschrieben ist. Im übrigen muß man diese Ringkolonieen wohl als Analogon zu den sogenannten Hexenringen beim Fliegenschwamm, Steinpilz, bei den Morcheln und anderen höheren Pilzen betrachten.



Fig. 12. Ringkolonie bei einem Schimmelpilz auf Traubenzuckeragar in natürl. Größe.

Färbt man eine Kultur in dünner Nährbodenschicht in situ, so erkennt man, daß die vegetativen radialen Fäden an der Peripherie, also da, wo sie am jüngsten sind, die Farbe wesentlich besser annehmen, als die älteren mehr nach der Mitte zwischen den Ringen liegenden. Bei schwacher Vergrößerung ist dann die Kolonie von einem ziemlich scharf abschneidenden Bande dunkler gefärbter Fädchen umgrenzt, wie in Fig. 13. Ich schließe daraus, daß diese nach außen weiterwachsenden Fäden zentralwärts bald absterben.

Von manchen Forschern, wie Neukirch, wird nun behauptet, daß außer den Luftsporen noch sogenannte Fragmentationssporen durch Zerfall der vegetativen Fäden entständen. Bei meinen Kulturen in dünner Nährbodenschicht habe ich nichts Derartiges gesehen; wohl aber fand ich in älteren Bouillon- und Gelatinekulturen von Streptothrix coelicolor ohne kreidigen Belag Haufen kokkenartiger Gebilde — Aussaaten zeigten, daß es keine Verunreinigung war, die vielleicht dem entsprechen. Die Entstehung dieser Gebilde habe ich nicht untersucht, kann daher auch nicht entscheiden, ob sie nicht dasselbe sind wie die Luftsporen, nur daß sie untergetaucht entstanden wären.

Die vegetativen Fäden bestehen nun nicht aus homogener Substanz. Besonders Neukirch beobachtete in den lebenden Fäden kleine Körner, und konnte sie auch durch vorsichtige Färbung darstellen. Mir gelang dies nicht in zufriedenstellender Weise mit Methylenblau, mit Karbolfuchsin, nach Gram, nach Giemsa oder mit der Neisserschen Körnchenfärbung. Es gelang mir das besser auf folgende Weise: Ich erhitzte das gut fixierte Präparat einige Minuten auf 120 bis 130° und zwar in einer Calciumchloridlösung; dann färbte ich es ziemlich lange mit verdünntem Karbolfuchsin oder nach Giemsa. In einem solchen Präparate liegen, wie die Fig. 14 zeigt, in den nur blaß gefärbten Fäden

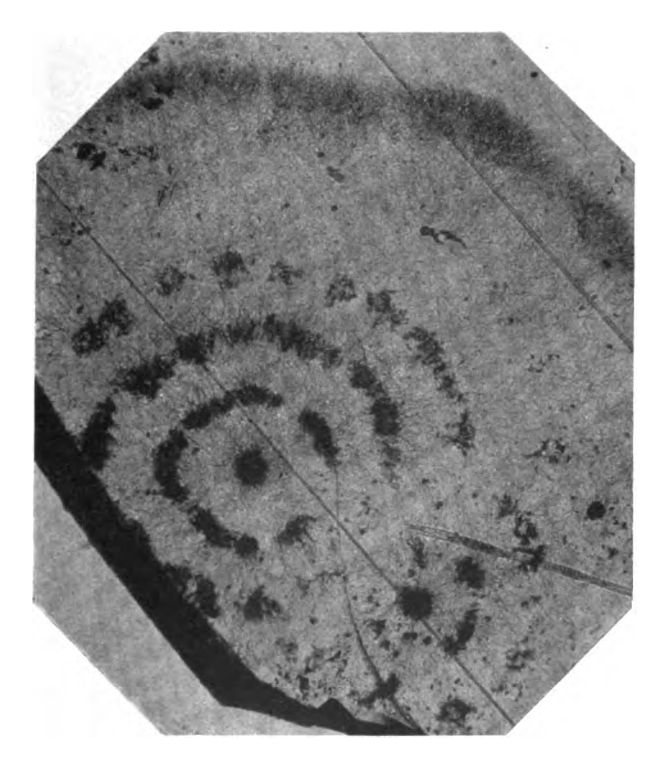


Fig. 13. Streptothrix coelicolor auf der Glaswand eines Kartoffelröhrchens, nach Gram gefärbt. Vergr. 25 : 1.

viele stark gefärbte Körner in ziemlich gleichmäßigen Abständen, ähnlich den Körnern des Nekrosebacillus. Ueber diese Färbung möchte ich an anderer Stelle berichten; hier sei nur erwähnt, daß ich derartige und zwar zentral gelegene Körner auf diese Weise zuerst im Diphtheriebacillus fand, und daß ich diese nicht Kerne nennen möchte, wie das Neukirch bei Streptothrix zu tun geneigt ist.

Endlich sei noch auf eine Erscheinung hingewiesen, die Fig. 15 veranschaulicht. Aeltere Streptothrix-Kolonieen verschiedener Arten haben vielfach die Neigung, sich zusammenzukrempeln; sie bekommen dadurch etwa wie eine sich kontrahierende Qualle eine stärkere Wölbung. Dabei wird am Rande der Kolonie der Nährboden oft rinnenförmig eingedrückt; manchmal reißt dabei auch die Kolonie in der Mitte, die Ränder des

Loches biegen sich dann nach innen um und zerreißen den Nährboden darunter, so daß dort der Glasboden der Petri-Schalen bloßliegt. Die

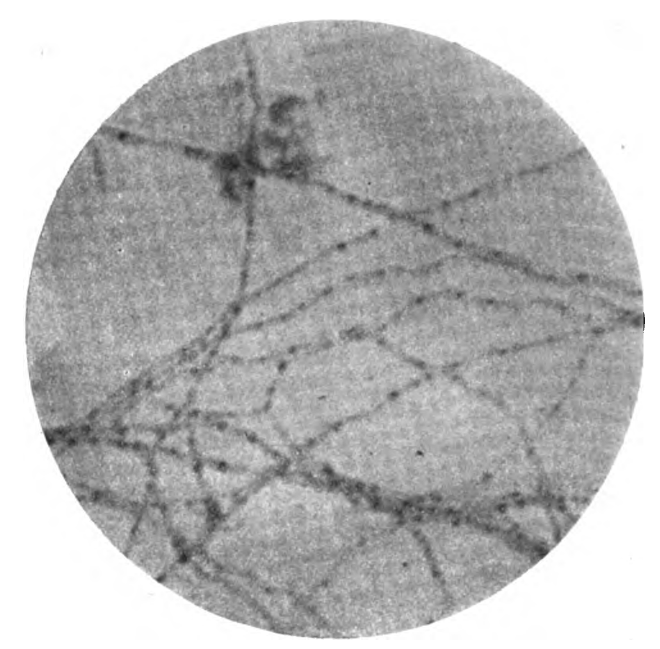


Fig. 14. Streptothrix coelicolor. Körner in den Fäden einer 6 Tage alten Gelatinekultur. Vergr. 3000 : 1.

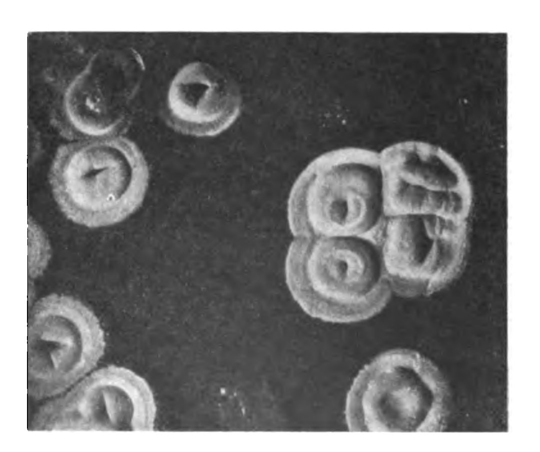


Fig. 15. Streptothrix coelicolor auf Stärkeagar. Vergr. 2 : 1.

Fig. 15 zeigt solche Kraterkolonieen auf Stärkeagar. — Zusatz von Stärke oder Gummi arabicum macht Nähragar auffallend weich.

Verhalten der Streptothrix coelicolor zur Temperatur und zu Nährböden im allgemeinen: Sie wächst gut bei Zimmerwärme und bei 36°. Meist wurde sie bei Zimmerwärme gehalten. Sie

gedeiht nur bei Sauerstoffzutritt, in Verteilungskulturen daher nur bis etwa 3 mm unter der Oberfläche. Bei 36° wird der blaue Farbstoff nicht erzeugt. Aeltere Kulturen haben den für Streptothrix charakteristischen starken, moderigen Geruch.

Gelatine: Gutes Wachstum ohne Farbstoffbildung mit allmählicher Verflüssigung. Bemerkenswert ist die Art dieser Verflüssigung. Es ist auffallend, daß selbst in recht dicht bewachsenen Kulturen der Nährboden oft erst nach 4—6 Tagen anfängt weich zu werden; ich nehme deshalb an, daß es sich hier um ein Endoenzym handelt, das erst nach Absterben und Zerfall der Fäden den Nährboden peptonisieren kann. Ich versetzte nun Gelatine mit Thymol oder mit Karbolsäure und legte nach dem Erstarren hier und da eine Oese voll des kreidigen Belages älterer Kartoffelkulturen darauf. Schon nach 12 Stunden war bei Zimmerwärme schalenförmige Verflüssigung von etwa 1 cm Durchmesser entstanden. Ebenso entstand auf Löfflerschem Serum bei 52° innerhalb 12 Stunden eine ungefähr ebensogroße Eindellung und Erweichung. Kreidiger Belag von 7 anderen Streptothrix-Arten bewirkte auf Karbolgelatine dasselbe. Es liegt die Annahme nahe, daß diese schnelle Enzymwirkung einer Luftspore von Nutzen ist, wenn sie auf einen Nährboden gefallen ist, da ja dadurch die Nahrungszufuhr erleichtert wird.

Agarnährböden: Auf gewöhnlichem neutralen Agar gutes Wachstum, aber kein oder nur geringer kreidiger Belag. Zusatz von Serum, Glykogen, Dextrin oder Amylum solubile (Fig. 15) riefen dagegen kreidigen Belag hervor, während Arabinose, Isodulcit, Mannit, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Laktose, Saccharose oder Raffinose dies nicht taten. — Auf 5—10-proz. Dextrinagar bildet die Streptothrix einen schön braunen Farbstoff, der langsam den ganzen Nährboden durchdringt. (Bacterium coelicolor wächst auf Dextrinagar nicht braun.) Auf Glycerinagar dagegen, wie es von anderen Streptothrix-Arten beschrieben ist, bildet meine Streptothrix diesen braunen Farbstoff nicht oder nur in Spuren.

Bouillon: Gutes Wachstum, besonders in niedriger Schicht im Erlenmeyerschen Kolben. Kreidiger Belag nur am Glasrande.

Milch: Bei Zimmerwärme sah ich nie Gerinnung; schüttelte ich aber die Röhrchen öfters durch, so entstand bald eine Aufhellung, ja fast vollständige Peptonisierung. Anders bei 36°, wo am 3. bis 4. Tage Gerinnung eintritt; die Röhrchen wurden jeden Tag geschüttelt, weil die Streptothrix ja nur an der Oberfläche wächst. Da nun die geronnene Milch meist amphoter reagiert, und andere Versuche zeigten, daß die Streptothrix aus Milchzucker keine Säure bildet, liegt also offenbar eine Labgerinnung vor. Ich machte auch mit der Milch einen ähnlichen Versuch wie mit der Gelatine: Zu 3 ccm Milch fügte ich 2 Tropfen Karbolsäure und beschickte derartige Röhrchen mit ein Paar Oesen von kreidigem Belage alter Kartoffelkulturen; bei 36° trat in 4—12 Stunden eine vollständige Gerinnung ein. Ich machte den gleichen Versuch mit 7 anderen Streptothrix-Arten mit demselben Erfolge. Dieses Chymosin scheint also bei Streptothrix sehr verbreitet zu sein. Milchagar (1:1) in Petri-Schalen wird im Gegensatz zu Bacterium coelicolor nicht blau gefärbt. In der Umgebung der Impfstriche tritt langsam eine Aufhellung ein. Kreidiger Belag wird nur wenig gebildet.

Kartoffel: Die Umgebung des Impfstriches wird meist schon am 2.—3. Tage himmelblau; diese Farbe durchdringt bald den ganzen



Fig. 16. Streptothrix coelicolor auf Kartoffelbreiagar. Vergr. 2:1.

Nährboden, der schließlich meist tiefblau aussieht. Auch das Kondenswasser des Röhrchens nimmt meist eine lichtblaue Farbe an. Nur selten ist sie grünlichblau oder blauviolett; auch färben sich manche Kartoffelstücke schlecht oder, was sehr selten ist, gar nicht. Auf Glycerinkartoffeln ist Wachstum und Farbstoffbildung weniger stark und verlangsamt. Auffallend waren folgende Erscheinungen: Eine Glycerinkartoffel im Röhrchen mit paraffiniertem Watteverschluß begann erst nach 3, eine andere nach $4^1/_2$ Monaten blau, und zwar recht schön blau zu werden; bis dahin waren sie trotz leidlich gutem Wachstum ganz farblos geblieben. — Ich verrieb ferner gekochte Kartoffeln fein, fügte eine gleiche Menge Agars hinzu und ließ diesen Kartoffelbreiagar in Röhrchen schräg erstarren. Darauf wuchs nun Streptothrix coelicolor ungewöhnlich üppig und mit starker Farbstoffbildung. Dabei entstanden auf der Oberfläche merkwürdige darmschlingen- oder wurmartige, meist frei in die Luft ragende Gebilde, wie dies die Fig. 16 erkennen läßt.

Blutagar: Um die Einzelkolonieen bildet sich auf den Platten ein klarer Hof durch Zerstörung des Blutfarbstoffes, und zwar am schnellsten bei 36°. Daraufhin prüfte ich nun ebenso 9 andere Streptothrix-Arten und fand bei 5 am nächsten Tage eine ebensolche Hofbildung; bei den 4 anderen fehlte sie ganz. Die Streptothrix-Arten zerfallen demgemäß nach ihrem Wachstum auf Blutagar in 2 Gruppen. Ein Actinomyces-Stamm zeigte auch Hofbildung. — Der Nährboden bestand aus einem Teile Ziegenblut und zehn Teilen Nähragar.

Zerlegung von Kohlenhydraten: Wie bei der Prüfung von Bacterium coelicolor, versetzte ich Lackmus-Ascites-Agar mit 1 Proz. des Kohlenhydrates; geprüft wurden Glycerin, Erythrit, Arabinose, Adonit, Isodulcit, Dulcit, Mannit, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Laktose, Saccharose, Raffinose, Dextrin, Inulin und Amylum solubile; ferner Triolein, das in Form feinster Tröpfchen im Nährboden verteilt war. Gleichzeitig mit Streptothrix coelicolor prüfte ich noch 11 andere Streptothrix-Arten und fand, daß keine dieser 12 Arten irgend einen der genannten Stoffe unter Säurebildung, d. h. Rötung des Nährbodens, zerlegte.

Antagonismus: Impfstriche verschiedener Keime auf Agarplatten durchquerte ich mit Impfstrichen der Streptothrix coelicolor. Dabei beeinträchtigte sie das Wachstum von Oidium lactis sehr stark (Bacterium coelicolor tat das nicht). Bei den anderen Keimen trat keine gegenseitige Beeinflussung auf. Geprüft wurden noch Choleravibrionen, Typhus-, Paratyphus- und Coli-Bakterien, Streptokokken, Staphylokokken, Pseudodiphtherie- und Milzbrandbacillen. Umgekehrt

verhinderte auf einer Serumagarplatte eine nicht weiter verfolgte Kolonie gramnegativer Stäbchen eine zufällige Verunreinigung, das Wachstum von Streptothrix coelicolor in 2—3 mm Umkreis vollständig.

Tierversuche: 4 Meerschweinchen erhielten intracardial[1]) 2 ccm einer milchigen Aufschwemmung von kreidigem Kartoffelbelag. Davon ging ein Tier in wenigen Stunden infolge von Embolieen ein, die anderen erkrankten nicht. Ebenso wurden 2 Meerschweinchen ohne Erfolg subkutan und intraperitoneal geimpft; desgleichen 2 Kaninchen intravenös.

Der blaue Farbstoff (Amylocyanin).

Man kennt ja schon eine Reihe von Keimen, die blauen Farbstoff bilden; bei Bacterium und Streptothrix coelicolor ist dieser Farbstoff besonders bemerkenswert, weil er sich nur auf bestimmten Nährböden bildet, dann weil er sich chemisch anders verhält, als die bisher beschriebenen blauen Bakterienfarbstoffe und endlich weil dieser Farbstoff erzeugt wird von zwei morphologisch zwar sehr verschiedenen Mikroorganismen, die aber doch nach Ansicht mancher Forscher im System nahe zusammen gehören.

Auf welchen Nährböden entsteht nun die blaue Farbe? Die gewöhnlichen Nährböden, wie Agar, Gelatine und Bouillon, färben sich nicht blau, auch nicht nach Zusatz von Glycerin, Tyrosin und der verschiedenen Zuckerarten, die bei der Prüfung der Gärfähigkeit vorhin genannt sind. Auf Löfflerschem Serum fand ich bei Bacterium coelicolor einmal einen ganz schwach graublauen Farbton; sonst wuchs es, wie auch die Streptothrix, farblos. Auf Blutagar war einmal die Streptothrix schwach, aber deutlich graublau, während sie das sonst ebenso wie das Bakterium nicht tat. Auf sterilisierten Kalbshirnscheiben erzeugte das Bakterium eine schöne blaue Farbe; die Streptothrix wurde darauf nicht geprüft. Ich vermischte Hühnereigelb mit gleichviel Agar und sterilisierte dies nach der Erstarrung im Dampftopf; das Bakterium wuchs blau darauf, die Streptothrix nicht. Auf Hühnereiweiß bildeten beide keinen Farbstoff. Milch in Röhrchen färbt das Bakterium an der Oberfläche blau; stärker ist aber die Farbe meist in Milchagarplatten. Auf Kartoffeln bilden beide den schönsten Farbstoff. — Die blaue Farbe entsteht auf allen diesen Nährböden nur bei Temperaturen unter 30°; und zwar nur bei Sauerstoffzutritt, schon weil beide Keime obligat aërob sind.

Warum bildet sich bei 36° keine blaue Farbe? Ich filtrierte eine tiefblaue Lösung des Streptothrix-Farbstoffes (Herstellung folgt unten) durch Reichel-Kerzen, vermischte diese keimfreie Flüssigkeit mit gleichviel neutralen Agars und goß sie in Petri-Schalen. Auf diesen hellblauen klaren Nährboden impfte ich strichweise Bacterium und Streptothrix coelicolor und hielt die Kultur bei 36°. Nach 48 Stunden war die Umgebung der Impfstriche entfärbt, während die übrige Platte blau geblieben war. Behandelte ich unfiltrierte Farbstofflösung ebenso, dann war sie durch die darin befindlichen Streptothrix-Keime schon nach 12 Stunden bei 36° entfärbt. Also vernichten beide Mikroorganismen bei 36° den Farbstoff selbst, können daher nicht blau wachsen.

Warum werden nur bestimmte Nährböden blau? Das ist etwas schwieriger zu beantworten. Hier ist zunächst folgende Be-

1) Morgenroth, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVIII. p. 195.



obachtung zu vermerken: Die Kulturmasse von Bacterium coelicolor ist viel weniger blau als der Nährboden (Kartoffel). (Bei Streptothrix ist das schwer festzustellen, da sich diese schnell mit schneeweißem kreidigen Belag überzieht.) Daraus schließe ich, daß das Bakterium nicht selbst die blaue Farbe erzeugt, denn dann müßte die Bakterienmasse doch am stärksten blau sein; sondern ich nehme an, daß ein farbloser, chromogener Stoff abgesondert wird, der dann mit Bestandteilen des Nährbodens eine blaue Reaktion eingeht.

Nösske[1]) hat gefunden, daß Bacterium pyocyaneum nur bei Anwesenheit von Schwefel und Magnesium das Pyocyanin bildet. Um nun festzustellen, ob auch bei meinen Keimen einzelne Elemente eine Rolle spielten, versetzte ich Nähragar mit kleinen Mengen folgender Stoffe: KNO_3, $MgSO_4$, $CaSO_3$, $Ca_3(PO_4)_2$, Na_2HPO_4, IK. Blaue Farbe wurde darauf nicht gebildet. Dann dachte ich daran, ob vielleicht die farblose Blausäure mit Eisensalzen die Farbe hervorrufe: aber Blausäure färbte Kartoffeln nicht blau, andererseits ließen Ferri- und Ferrosalze oder beide zusammen in Agarkulturen keine blaue Farbe entstehen, und endlich ist mein Farbstoff chemisch verschieden von den blauen Eisencyaniden.

Ein anderer Weg ergab mehr: Ich preßte den Saft roher Kartoffeln aus, sterilisierte und filtrierte ihn und vermischte ihn mit gleichviel Nähragar. Es entstand keine blaue Farbe auf diesem Nährboden. Also ist der gesuchte Stoff nicht im Safte der Kartoffeln gelöst. Von den unlöslichen Stoffen der Kartoffel kam ja nun zunächst die Stärke in Betracht. Ich bereitete mir aus reiner Kartoffelstärke einen Kleister und goß diesen mit gleichviel Agar vermengt zu Platten aus. Auf diesem Stärkeagar wuchsen beide Mikroorganismen schön blau; ebenso bei Verwendung von Weizenstärke oder von Amylum solubile (Merck). Nicht so bei den der Stärke nahestehenden Stoffen Inulin, Glykogen, Dextrin und Gummi arabicum und deren Derivaten: Raffinose, Saccharose, Laktose, Maltose, Mannit, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Isodulcit und Arabinose. (Auf Dextrin wurde, wie gesagt, ein brauner Farbstoff gebildet.) Um Jodstärke kann es sich ja hier naturgemäß nicht handeln, auch wird die durch Kochen zerstörte Farbe meiner Keime nicht wie die Jodstärke beim Erkalten wieder blau. Die Stärke ist also der gesuchte Stoff oder einer der gesuchten Stoffe, die die Bildung der blauen Farbe in den Kartoffeln bewirken. Deshalb schlage ich für diesen unten noch näher charakterisierten Farbstoff den Namen Amylocyanin vor. Ich nehme an, daß seine Entstehung auf Hirn-, Eigelb- und Milchnährböden auch verursacht wird durch Molekularkomplexe, die dem Stärkemoleküle nahe stehen.

Bereitung der Farbstofflösung: 2 bis 4 Wochen alte Kartoffelröhrchen der Streptothrix, und zwar solche, die am stärksten blauschwarz waren, wurden mit destilliertem Wasser so weit gefüllt, daß der Nährboden bedeckt war. Nach mehrstündigem Stehen war das Wasser dunkelblau, aber sonst klar. Nach dem Abgießen kann man mit neuem Wasser die Auslaugung fortsetzen, wobei schließlich das Kartoffelstück wieder weiß wird, während die Kulturmasse der Streptothrix meist bräunlich gefärbt erscheint. Man erhält so von einem Kartoffelröhrchen 10—20 ccm dunkelblauer klarer Lösung. Das Amylocyanin ist also im Vergleich zu ähnlichen Farbstoffen anderer Mikroorganismen leicht in wässeriger Lösung darstellbar. Die Lösung enthält natürlich

---

1) Nösske, Diss. Tübingen 1897 und Arch. f. klin. Chirurgie, Bd. LXI. p. 266.

den Farbstoff nicht rein, z. B. sind auch noch Enzyme darin gelöst. Auch bei Bacterium coelicolor läßt sich so die blaue Farbe gewinnen; aber meist enthalten hier die Kartoffeln nicht so viel Farbe und dann wird die Flüssigkeit auch von der abgeschwemmten üppig gewachsenen Bakterienmasse getrübt. Darum sind alle folgenden Versuche zuerst mit dem Streptothrix-Farbstoffe angestellt und dann die wichtigeren auch mit dem Farbstoffe oder mit blauen Kartoffelstückchen des Bakteriums nachgeprüft worden. Hierbei verhielten sich die Farbstoffe beider Keime gleich.

Biologisches Verhalten: Einige Kubikcentimeter der Farbstofflösung riefen bei Meerschweinchen und Kaninchen nach Einspritzung in die Blutbahn, unter die Haut oder in die Bauchhöhle keine Vergiftungserscheinungen hervor. Nach wiederholten Einspritzungen brachte ich das Blutserum der Tiere mit gleichviel Farbstofflösung zusammen; dadurch wurde keine Veränderung — Präzipitation oder Zerstörung — des Farbstoffes bewirkt, er scheint also nicht zu den Antigenen zu gehören.

Spektrum: Die blaue Lösung absorbiert am stärksten die Lichtwellen zwischen der D-Linie und dem Beginne des reingrünen Teiles des Spektrums; zu beiden Seiten dieses Bezirkes wird die Absorption allmählich geringer, bis etwa zu den Linien C und E reichend.

Löslichkeit: Das Amylocyanin ist anscheinend nur in Wasser oder wasserhaltigen Mitteln löslich. Versetzen der wässerigen Lösung mit gleichviel Glycerin, absolutem Alkohol oder Aceton oder mit NaCl bis zur Sättigung verändert den Farbstoff nicht nennenswert. Mit Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Amylalkohol, Benzin, Petroläther, Xylol oder Terpentinöl ließ er sich nicht ausschütteln. Ich verdampfte bei 60° und bei etwa 50 mm Hg-Druck das Wasser; es blieb ein dunkelblauer Niederschlag zurück, der sich sofort wieder in Wasser, nicht aber in absolutem Alkohol, Aether, Chloroform oder Xylol löste; in Glycerin aber löste er sich langsam, jedoch war dieses nicht sicher wasserfrei.

Kristallisierung: Der genannte Rückstand wies auch unter dem Mikroskope keine Kristallbildung auf. Auch mit der von Rümpler[1]) angegebenen Methode für schwer kristallisierbare Stoffe — Versetzen der Lösung mit Alkohol, dann Wasserentziehung im Exsikkator über gebranntem Kalk — führte bis jetzt nicht zum Ziele.

Absorption: Wurde mit Tierkohle geschüttelt und dann zentrifugiert, so war der Farbstoff völlig absorbiert. Dasselbe bewirkte Braunsteinpulver; Kreidepulver dagegen nicht.

Entfärbung: Sie tritt ein durch Erhitzen auf 100°; selbst stundenlanges Erwärmen auf 60° hat aber keinen wesentlichen Einfluß. Durch Wasserstoffsuperoxyd wurde die Lösung in wenigen Stunden ganz farblos klar; ich versetzte sie mit gleichviel Merckschem Perhydrol. Die sauerstoffabsorbierenden Stoffe Terpentinöl und Paraffinum liquidum bewirkten nach Ueberschichten innerhalb einiger Tage auch Entfärbung. Unter der Wasserstrahlluftpumpe wurde bei 20 mm Hg-Druck eine solche Entfärbung (durch Sauerstoffentziehung) aber nicht wahrgenommen. Normalkalilauge und Normaloxalsäure entfärbten gleiche Teile Farbstofflösung in 24 Stunden.

1) Rümpler, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. XXXIII. 1900. p. 3474.

Rotfärbung: Wird durch Säuren erzeugt, sofort durch Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Oxalsäure, Zitronensäure oder Salicylsäure; sie kann durch Alkalien wieder in Grün verwandelt werden. Bei längerem Stehen entfärben sich diese Mischungen meist völlig oder sie werden helbgelb. Rotfärbung rufen auch hervor: Alaun, Calciumsulfat, Magnesiumsulfat, Zinksulfat, Strontiumchlorid, Lithiumchlorid, Magnesiumchlorid, Manganochlorid, Calciumnitrit, Caliumdiphosphat u. a., wobei die Farbe sich teilweise tagelang hält.

Grünfärbung: Entsteht durch Alkalien und kann durch Säuren wieder in Rot verwandelt werden; so durch Natronlauge oder Kalilauge, wobei aber, wie gesagt, später Entfärbung eintritt. Die grüne Farbe bleibt dagegen lange erhalten nach Zusatz von Merkurichlorid, Merkurisulfat, Merkuronitrat, Borax, neutralem Kaliumtartrat, dreibasischem Bleiacetat u. a.

Unverändert bleibt die blaue Farbe nach Schütteln mit Chloroform, Aether, Benzin, Xylol, und sie konnte z. B. mit Xylol überschichtet über einen Monat ziemlich unverändert aufbewahrt werden. Unverändert ließen die Farbe auch folgende Stoffe, die bis zur Sättigung zugesetzt wurden: Natriumchlorid, Baryumchlorid, Kaliumjodid, Kaliumchlorat, Baryumnitrat, Strontiumnitrat, Kaliumacetat, Bleiacetat und Thymol.

Ausfällung: Ohne Veränderung der blauen Farbe habe ich keine Ausfällung erreicht, auch nicht durch Aussalzen. Nur durch das genannte Abdestillieren des Wassers unter herabgesetztem Drucke konnte ich die blaue Substanz trocken erhalten. In grünen Flocken fällt der Farbstoff aus durch Quecksilberverbindungen, wie Merkuronitrat oder Merkurisulfat; auch durch dreibasisches Bleiacetat. — Rote Ausflockung bewirkte Zinkchlorid und Natrium-Stannichlorid.

Von den anderen blauen Bakterienfarbstoffen habe ich nur zwei beschrieben gefunden, die in Wasser löslich sind. Das Syncyanin der blauen Milch ist nach Thumm[1]) in Wasser und Glycerin löslich, in allen anderen gebräuchlichen Lösungsmitteln nicht. Es wird aber durch Säuren nicht rot und durch Alkalien nicht grün und zeigt auch noch andere Abweichungen.

Dann bildet der Micrococcus cyaneus auf Nährböden gesättigt kobaltblaue Ueberzüge, deren Farbstoff in Wasser löslich sei und wie Lackmus durch Säuren rot, durch Alkalien wieder blau (nicht grün) werde. Am nächsten scheint dem Amylocyanin das „Blumenblau" oder Anthocyanin zu stehen, das in Blättern höherer Pflanzen vorkommt. Es wird auch durch Säuren rot und durch Alkalien grün; auch bildet es mit Bleizucker und anderen Stoffen grüne in Wasser unlösliche Verbindungen; es soll aber außer in Wasser noch in (absolutem?) Alkohol löslich sein. Da die Blätter der höheren Pflanzen der Entstehungsort der Stärke sind, so wäre vielleicht auch bei diesem Farbstoffe eine Beziehung zur Stärke nicht ausgeschlossen.

---

1) Thumm, Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut Karlsruhe. Vergl. auch Lehmann-Neumann, Bakteriologische Diagnostik. 4. Aufl. p. 62.

Ueber Tuberkelbacillen in der Milch tuberkulöser Tiere.

Von Dr. **D. A. de Jong** in Leiden.

Ueber die Gefährlichkeit der Milch der auf Tuberkulin reagierenden Kühe herrschen verschiedene Ansichten. Indessen gibt es Fälle, in denen diese Gefahr einstimmig anerkannt wird. In dieser Hinsicht sind zuvörderst die Fälle von Eutertuberkulose zu nennen. Die Milch von damit behafteten Kühen wird allgemein für schädlich gehalten.

An zweiter Stelle sind es diejenigen Tiere, welche, ohne Tuberkulose des Euters zu zeigen, doch in solchem Grade klinisch tuberkulös sind, daß die Krankheit leicht und ohne Hilfe des Tuberkulins zu erkennen ist. Die tuberkulös abgemagerten Tiere und vor allem diejenigen, welche eine offene Tuberkulose zeigen und mit den verschiedenen Se- und Exkreten Tuberkelbacillen an die Umgebung abgeben, werden auch wohl allgemein vom milchhygienischen Standpunkt für sehr gefährlich angesehen.

Anders ist es mit der Milch der übrigen tuberkulösen Tiere bestellt. Das sind diejenigen Tiere, welche augenscheinlich vollkommen gesund sind, und bei denen auch durch die genaueste klinische Untersuchung Tuberkulose nicht festgestellt werden kann, bei welchen jedoch die Tuberkulinreaktion positiv ausfällt. Die Tiere zeigen also kein einziges klinisches Zeichen der Tuberkulose und reagieren lediglich auf Tuberkulin.

Es fragt sich nun, kann die Milch von solchen Tieren Tuberkelbacillen enthalten und kann sie Menschen und Tieren nachteilig werden?

Es besteht ein Unterschied zwischen diesen beiden Fragen. Für eine tuberkulöse Infektion ist nämlich eine gewisse Menge von Bacillen notwendig, und überdies müssen diese eine bestimmte Virulenz besitzen.

Vom praktischen Standpunkte aus ist es angezeigt, eine jede Milch als gefährlich für die menschliche Gesundheit zu betrachten, welche lebende und virulente Tuberkelbacillen enthält. Demnach lassen sich die beiden oben gestellten Fragen in eine einzige zusammenfassen: Kann die Milch klinisch nicht tuberkulöser Kühe, welche lediglich auf Tuberkulin reagieren, lebende und virulente Tuberkelbacillen enthalten?

Diese Frage hat einen großen praktischen Wert. Die Hygiene des Menschen verlangt eine Milch, die frei ist von den genannten Tuberkelbacillen, die Hygiene der Tiere will mit den Bacillen versehene Milch weder als Nahrung für Kälber noch für andere Tiere. In dieser Hinsicht lautet also die Frage:

Kann man sich vom hygienischen Standpunkte und besonders im Hinblick auf die Tuberkulose zufrieden stellen mit der Milch von Kühen, welche klinisch vollkommen gesund sind, ausgenommen eine eventuelle positive Reaktion auf Tuberkulin? Oder muß man eine Milch verlangen von solchen Tieren, welche auch auf Tuberkulin nicht reagieren?

Die oben angeregte wissenschaftliche Frage hat bereits eine sehr interessante Geschichte. Sie geht zurück bis auf das Jahr 1899. Ostertag hält die Milch der lediglich auf Tuberkulin reagierenden Kühe für

nicht gefährlich, L. Rabinowitsch ist anderer Meinung. Adami und Martin sowie Rabinowitsch führen neue Tatsachen zu Gunsten der Infektiosität an; Müller, Ascher sowie Ostertag teilen jedoch Untersuchungen mit, welche für die Harmlosigkeit solcher Milch sprechen.

Letzteren Autoren schließen sich McWeeney und Stenström an, während Gehrmann und Evans, Ravenel, Mohler und namentlich in letzterer Zeit Moussu[1]) sowie Martel und Guérin[2]) zeigen, daß die Milch lediglich reagierender Kühe wirklich gefährlich ist.

Bezüglich der Literatur bis zum Jahre 1904 verweise ich auf die Arbeit von Rabinowitsch[3]) in der Zeitschr. für Tiermed. Bd. VIII. 1904. Heft 3 u. 4.

Das Studium der Literatur über diesen Gegenstand drängt zu der Ansicht, daß die Milch der lediglich auf Tuberkulin reagierenden Kühe, auch wenn sie weiter keine klinischen Erscheinungen zeigen, eine Gefahr für die Gesundheit des Menschen und der Tiere bilden kann. Die Versuche von Ostertag, welche mit großer Sorgfalt ausgeführt worden sind, genügen doch nicht, um alle entgegengesetzten Resultate anderer Forscher wertlos zu machen. Ueberdies ist bei der Beurteilung dieser Frage die Möglichkeit nicht außer Acht zu lassen, „daß die Milch vorübergehend Bacillen enthalten kann und daß bei Verimpfung solcher Milch an Versuchstiere die negativen Resultate von positiven gefolgt sein können, wenn die Versuche zu verschiedenen Zeiten wiederholt werden.“

Wir haben selbst Versuche angestellt, da sich auf unserem Schlachthofe gute Gelegenheit dazu bot. Es werden daselbst öfters Kühe in bestem Ernährungszustand und von ausgezeichnetem Aussehen in voller Laktion aufgenommen, und gute Stallungen befinden sich in der Nähe des Laboratoriums. Wir wählten also Tiere, welche genügend fett, milchgebend und klinisch vollkommen gesund waren. Von solchen Kühen kann man die Milch nehmen, auf Tuberkelbacillen untersuchen, und man hat den großen Vorteil, nach der Schlachtung die Tiere genau auf Tuberkulose untersuchen und in den positiven Fällen die Ausbreitung der Krankheit feststellen zu können. Auf diese Weise ist es möglich, mit großer Sicherheit Tiere zu finden, welche tuberkulös sind, jedoch keine offene Tuberkulose und auch keine Eutertuberkulose haben. Unsere Versuchsanordnung war ähnlich der von Martel angewandten; dieser Autor hat jedoch nicht die Milch, sondern von den Milchdrüsen abgeschabtes Material verimpft. Wir meinen, daß diese letztere Methode die zur Diskussion stehende Frage nicht zu lösen vermag. In den Fällen von Martel war die Drüse wirklich krank, ohne dem unbewaffneten Auge wahrnehmbare Veränderungen zu zeigen. Wie war es aber mit der Milch? Enthielt sie virulente Tuberkelbacillen oder nicht?

Wir haben im ganzen 11 Versuche angestellt, d. h. mit der Milch von 11 Kühen experimentiert, welche klinisch vollkommen gesund waren, normale Milch lieferten, keine Eutertuberkulose hatten und sich in sehr gutem Ernährungszustande befanden. Von offener Tuberkulose war klinisch nicht die Rede. Nach der Schlachtung lehrte die Obduktion jedoch, daß in einem dieser Fälle Uterustuberkulose bestand mit sehr

---

1) Société de Biol. 1904 u. 1905. — Arch. f. Tierheilk. 1906.
2) Congrès de la tuberculose. Paris 1905. — Zeitschr. f. Tiermed. 1906.
3) Rabinowitsch, Zur Frage der Infektiosität tuberkulöser Kühe.

wenig Bacillen im Uterusschleim, obwohl intra vitam von Tuberkulose des Uterus nichts zu spüren war. Dieser Fall muß also von den übrigen getrennt werden; es verbleiben demnach 10 Fälle, in welchen es sich um geschlossene Tuberkulose handelte und in allen Fällen weder Euter noch die dazu gehörigen Lymphdrüsen irgend welche Veränderungen zeigten. Besonders sorgfältig wurden die Lungen untersucht. Keins von den Tieren hatte eine ausgebreitete Tuberkulose; große und erweichte Herde waren niemals vorhanden; die Untersuchung auf Tuberkelbacillen mittels mikroskopischer Untersuchung von Rachen-, Tracheal- und Bronchialschleim fiel stets negativ aus.

Vor der Schlachtung wurde die Milch der einzelnen Tiere mit großer Vorsicht gemolken, und zwar in der Art und Weise, wie es in einer uns bekannten Musteranstalt geschieht. Es wurde nur die zuletzt gemolkene Milch untersucht, während die ersten Milchstrahlen nicht zur Verimpfung gelangten, um die vielleicht aus der äußeren Umgebung in das Euter hineingelangten Tuberkelbacillen auszuschalten.

Vor dem Melken wurde das Euter, die Zitzen und der ganze Hinterteil des Tieres sorgfältig und wiederholt mit starker, heißer Seifenlösung gereinigt, und dabei besonders die Zitzenöffnungen berücksichtigt. Nachher reinigte sich der Melker mit der gleichen Seifenlösung sorgfältig seine Hände. Die vorher mit Seifenlösung gereinigten Körperteile des Tieres wurden sodann noch minutiös mit 3-proz. Borsäurelösung nachgewaschen, auch der Melker spülte seine Hände mit dieser Lösung ab. Inzwischen wurden sterilisierte Flaschen bereit gestellt, und zwar gelangte die Milch aus jedem Euterviertel zur Untersuchung, indem die ersten Striche kräftig ausgemolken und so der Zitzenkanal so gut als möglich gereinigt wurde. Nur die letzten Striche wurden in den sterilisierten Flaschen aufgefangen.

Die Milch der einzelnen Euterviertel wurde gemischt und von der Mischmilch wurden 40 ccm mit einer Geschwindigkeit von 3200 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert. Rahm und Bodensatz wurden mit der abgerahmten Milch gemischt, und 10 ccm dieser Mischung einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle, einem zweiten je 5 ccm unter die Haut beider Hinterschenkel gespritzt. Das Resultat der Versuche ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Ehe ich zu den aus den Versuchen herzuleitenden Schlußfolgerungen übergehe, ist es ratsam, noch einmal darauf hinzuweisen, daß die Ausdrücke „offene“ und „geschlossene Tuberkulose“ vom wissenschaftlichen Standpunkt nicht sehr exakt zu nennen sind. Unter offener Tuberkulose versteht man eine Krankheitsform, bei welcher die Organläsionen eine fortwährende Abgabe von Tuberkelbacillen durch die Se- und Exkrete erwarten lassen, weil eine direkte Verbindung der erkrankten Organe mit den Se- und Exkretionswegen besteht. Auf diese Weise gelangen die Tuberkelbacillen beständig in die äußere Umgebung.

Aber es versteht sich, daß auch in Fällen von nicht offener Tuberkulose, wo eine direkte Verbindung nicht besteht, dann und wann Bacillen an die Oberfläche dieser Wege gelangen können, sobald sie mit dem Blut- oder Lymphstrom weiter geschafft werden. Die Pathogenese der Tuberkulose beweist diese Möglichkeit. Es wird also immer schwer sein, genau die Grenze zwischen offener und geschlossener Tuberkulose anzugeben.

Und in klinischer Hinsicht ist dies mit Sicherheit wohl schwer zu beurteilen. Höchstens läßt sich auf Grund der klinischen Untersuchung

Nummer	Ausbreitung der Tuberkulose	In die Bauchhöhle geimpftes Meerschweinchen	Subkutan geimpftes Meerschweinchen	Gestorben oder getötet	Tuberkulös (+) oder nicht tuberkulös (—)	Datum der Impfung	Datum des Todes
1	Tuberkulose der Lungen, Bronchial- und Mediastinaldrüsen	a [1])		gest.	—	22. Okt. 06	31. Okt. 06
	Keine offene Tuberkulose	b [1])		"	—	22. Okt. 06	2. Nov. 06
	Euter gesund	c [1])		"	—	22. Okt. 06	2. Nov. 06
			d [2])	getötet	—	22. Okt. 06	8. Febr. 07
2	Tuberkulose der Bronchial- und Mesenterialdrüsen	a		getötet	—	29. Nov. 06	18. Febr. 07
	Keine offene Tuberkulose Euter gesund		b	"	—	29. Nov. 06	18. Febr. 07
3	Tuberkulose der Lungen, Bronchial- und Mediastinaldrüsen	a		getötet	+	6. Dez. 06	18. Febr. 07
	Keine offene Tuberkulose Euter gesund		b	"	+	6. Dez. 06	18. Febr. 07
4	Tuberkulose der Lungen, Bronchial- und Mediastinaldrüsen	a		gest.	+	13. Jan. 06	28. Jan. 07
	Keine offene Tuberkulose Euter gesund		b	"	+	13. Jan. 06	24. Jan. 07
5	Tuberkulose der bronchialen, portalen und Pankreasdrüsen. Einige Herde in den Mesenterialdrüsen. Lungen augenscheinlich gesund	a		getötet	—	5. Jan. 07	28. Jan. 07
	Keine offene Tuberkulose Euter gesund		b	"	—	5. Jan. 07	2. Mai 07
6	Tuberkulose der Lungen, retropharyngealen Drüsen, Nieren, Epicardium, Pericardium, Pleura, Peritoneum und Gebärmutter	a		getötet	+	5. Jan. 07	21. Febr. 07
	Euter gesund Offene Tuberkulose wegen des Uterusleidens. Kein Scheidenfluß während des Lebens. Sehr wenig Bacillen im Uterusschleim		b	"	+	5. Jan. 07	21. Febr. 07
7	Tuberkulose der Bronchial-, Mediastinal-, portalen und von 2 Mesenterialdrüsen	a		getötet	—	8. Jan. 07	21. Febr. 07
	Geschlossene Tuberkulose Euter gesund		b	"	—	8. Jan. 07	21. Febr. 07
8	Tuberkulose der Mediastinaldrüsen	a		getötet	+	14. Jan. 07	16. April 07
	Geschlossene Tuberkulose Euter gesund		b	"	—	14. Jan. 07	16. April 07

1) 3 Meerschweinchen intraperitoneal geimpft; Tod an septischer Peritonitis.

2) d bekam einen Absceß an dem rechten Hinterschenkel mit Schwellung der Leistendrüse; am 29. Nov. 1906 Exstirpation der Drüse und subkutane Impfung von 3 neuen Meerschweinchen, welche gesund geblieben sind.

Nummer	Ausbreitung der Tuberkulose	In die Bauchhöhle geimpftes Meerschweinchen	Subkutan geimpftes Meerschweinchen	Gestorben oder getötet	Tuberkulös (+) oder nicht tuberkulös (—)	Datum der Impfung	Datum des Todes
9	Tuberkulose der Lungen, Mediastinal-, Bronchialdrüsen, portalen, retropharyngealen, Pankreas u. von 3 Mesenterialdrüsen Keine offene Tuberkulose Euter gesund	a		getötet	—	4. Febr. 07	16. April 07
			b	"	—	4. Febr. 07	16. April 07
10	Tuberkulose der Lungen, Bronchial-, Mediastinal- und Mesenterialdrüsen Keine offene Tuberkulose Euter normal	a[1])		gest.	—	20. April 07	2. Mai 07
			b	getötet	—	20. April 07	2. Juli 07
11	Tuberkulose der rechten Parotisdrüse, der Bronchial- und Mesenterialdrüsen (verkalkte Herde) Keine offene Tuberkulose Euter normal	a		getötet	—	20. April 07	2. Juli 07
			b[2])	gest.	—	20. April 07	27. April 07

mutmaßlich angeben, daß eine offene Tuberkulose nicht existiert. Wir lassen diese wissenschaftliche Frage vorläufig außer Acht und kommen nun zur Beurteilung unserer Versuchsergebnisse.

Hierbei muß Versuch No. 6 ausgeschaltet werden, da bei diesem Tier sogenannte offene Tuberkulose nach der Schlachtung festgestellt wurde. Es verbleiben demnach 10 klinisch vollkommen gesunde Kühe ohne Erkrankung des Euters. Die Tiere wurden zwar nach dem Tode tuberkulös befunden, aber in geringem Grade, und niemals konnte eine offene Tuberkulose nachgewiesen werden. In 3 von diesen 10 Fällen enthielt die Milch virulente Tuberkelbacillen.

Dieses Resultat mahnt zur Vorsicht. Obwohl in den meisten Fällen die Milch von klinisch gesunden Kühen, welche lediglich auf Tuberkulin reagieren, keine virulenten Bacillen enthalten wird, so können doch auch Ausnahmen vorkommen. Wünscht man in dieser Hinsicht absolut sicher zu gehen, dann muß man eben die Milch nur von solchen Tieren nehmen, welche auch auf Tuberkulin nicht reagieren.

Leiden, August 1907.

1) Peritonitis.
2) Pfeiffersche Pseudotuberkulose.

Ueber das Keuchhustenstäbchen von Bordet und Gengou.

[Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie des Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg (Vorsteher: Prof. W. W. Podwissotzky).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. **W. N. Klimenko.**

Schon mehr als ein Jahr mich mit der Nachprüfung der Entdeckung von Bordet und Gengou[1]) über den Keuchhustenerreger beschäftigend, folgte ich streng der Methodik der oben erwähnten Forscher; die einzige Abweichung bestand darin, daß anstatt Schrägblutagar Blutagar in Petri-Schalen verwendet wurde. Leider bekam ich fast die ganze Zeit nur alte Keuchhustenfälle (3., 4. Woche u. s. w. des Stadium spasmodicum der Krankheit) in die Hände. Aus dem Sputum dieser Fälle gelang es nicht, das Stäbchen von Bordet-Gengou zu isolieren, wie man es auch nach der Erörterung der genannten Forscher erwarten mußte. In den letzten anderthalb Monaten habe ich jedoch Gelegenheit gehabt, das Sputum von 5 frischen Keuchhustenfällen (1. und 2. Woche des Stadium spasmodicum) zu untersuchen, und in allen diesen Fällen gelang es mir, ein Stäbchen, welches nach seinen morphologischen und biologischen Eigenschaften ganz dem Stäbchen der obenerwähnten Forscher glich, zu züchten. Außerdem gelang es in einem von diesen Fällen, welcher während der 3. Woche des Stadium spasmodicum durch Hinzutreten von Pneumonia catarrhalis dextra und Pleuritis fibrinosa purulenta tödlich endete, aus dem Blut des rechten Herzens und aus dem Safte des pneumonischen Herdes den oben erwähnten Mikroorganismus zu isolieren. Die vorgenommenen vergleichenden Untersuchungen mit Keuchhustenstäbchen von Bordet-Gengou, Influenzastäbchen von Pfeiffer[2]) und Bac. pertussis Eppendorf von Krause und Jochmann[3]) zeigten mir, daß die letzten 2 Mikroorganismen miteinander identisch sind und sich scharf von dem Stäbchen Bordet-Gengou unterscheiden. Ich spreche hier nicht von dem Stäbchen von Reyher[4]), denn seine Arbeiten zeigen deutlich, daß sein Stäbchen dem Mikroorganismus von Bordet und Gengou nicht ähnlich ist.

Als Ergänzung zu dem Obenerwähnten ist es nötig, zu bemerken, daß das Stäbchen von Bordet-Gengou auch auf dem Eidotternährboden von M. M. Nastjükoff[5]) wächst, daß aber doch der Blutnährboden ihm am meisten zusagt.

---

1) Bordet et Gengou, Ann. de l'inst. Pasteur. T. XX. 1906. Septembre et Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXI. 1907. Septembre; Bordet, Journ. méd. de Bruxelles. 1907. No. 25.

2) Pfeiffer, R., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. p. 357.

3) Jochmann u. Krause, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXII. Jochmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX; Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. Jochmann u. Moltrecht, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Org. Bd. XXXIV.

4) Reyher, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LVIII. 1903; Charité-Ann. 1904; Verh. d. Gesellsch. f. Kinderheilk. Meran 1905; Berl. klin. Wochenschr. 1906; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907; Ann. de l'Inst. Pasteur. 1907. No. 9.

5) Nastjükoff, M. M., Wratsch. 1903. No. 33—34 (russisch).

Auf Grund von Versuchen, die an verschiedenen Tieren in Angriff genommen worden sind, neige ich zu der Annahme, daß das Stäbchen von Bordet und Gengou der wahre Keuchhustenerreger ist. Mit Hilfe einer Reinkultur dieses Stäbchens, welche aus Sputum eines keuchhustenkranken Säuglings gewonnen war, ist es gelungen, bei Affen und Hündchen ein bellendes Husten zu erzeugen. Ein Affe war durch die oberen Atemwege infiziert. Ein anderer gesunder Affe war absichtlich mit dem künstlich infizierten Affen in denselben Käfig eingesperrt und am 3. Tage infizierte er sich von dem letzteren.

Die ausführliche Arbeit, die sowohl die Morphologie und Biologie des Keuchhustenstäbchens von Bordet-Gengou als auch das Resultat der Impfversuche an verschiedenen Tieren enthält, werde ich in Bälde veröffentlichen.

Beitrag zur Färbung und Morphologie des Streptococcus mucosus.

[Aus der kgl. Universitäts-Ohrenklinik zu München (Direktor: Prof. Dr. Bezold).]

Von Dr. **Rudolf Hoffmann.**

Der Streptococcus mucosus hat durch die Untersuchungen, die Süpfle[1]) an dem Materiale der Heidelberger Ohrenklinik (Direktor: Prof. Dr. Kümmel) ausführte, das Interesse der Otologen erregt; wurde doch durch sie festgestellt, daß sein Auftreten bei akuten Mittelohreiterungen auffallend häufig mit Komplikationen verknüpft ist, welche operatives Eingreifen verlangen. Meist wurde er bei der Paracentese oder Entnahme aus dem Warzenfortsatz in Reinkultur gewonnen; in Symbiose mit anderen Mikroorganismen scheint er leicht die Eigentümlichkeit der Kapselbildung zu verlieren.

Um solche mit Sicherheit konstatieren zu können, bedarf es besonderer Fixation und Färbeverfahren; im einfach gefärbten Ausstrichpräparat entzieht sich die Kapsel leicht der Beobachtung.

Ich möchte im Folgenden auf eine Färbemethode hinweisen, die den Vorzug guter Darstellung der Kapseln mit dem der Kürze des Verfahrens vereint. Es ist dies die Methode nach Jenner-May zur Färbung der Blutkörperchen: Sowie der möglichst dünn angelegte Ausstrich trocken geworden ist, wird er für 2 Minuten in die Farblösung (0,25 Proz. methylalkoholische Lösung von eosinsaurem Methylenblau, gebrauchsfertig durch Firma Dr. Schwalm-München beziehbar) eingestellt, in der gleichzeitig die Fixation erfolgt. Ein „durch die Flamme ziehen“ des Präparates ist überflüssig. Darauf bringt man den Objektträger in [neutrales (!)] destilliertes Wasser, worin er 1 Minute lang ruhig stehen bleibt. Die Trocknung erfolgt durch Abtupfen mit Fließpapier. Es zeigen sich dann alle Bakterien und Kerne blau, die Erythrocyten rot, die eosinophilen Granula tiefrot, die Mastzellenkörnelung bräunlich-violett gefärbt, die neutrophilen Granula erscheinen als feine rosa Stäubchen. Die Plasmazellen kennzeichnen sich durch die stets

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906.

randständige Lagerung des Kernes und den hellen Hof zwischen ihm und den der Zellhülle anliegenden dunklen Chromatinmassen. Auch die Plasmodien der Malaria kommen zur Darstellung.

Der Streptococcus mucosus, welcher in Reinkultur (44 Stunden für Mäuse pathogen) aus einem operativ geöffneten Warzenfortsatz stammte, zeigt folgende Tinktion: Bakterienleib tief dunkelblau, Kapsel hellblau; die Kapselhülle ist deutlich und scharf konturiert. Der „Schleim“, welcher den Kapseln anhängt, färbt sich leicht rosa.

Meist liegen die Kokken in Ketten von 2—6 Gliedern. Einzelne Kapselkokken sind relativ selten und zeigen zuweilen Degenerationserscheinungen, so daß es sich vielleicht oft um Reste zersprengter Ketten handeln dürfte. Die Färbung der Kerne resp. der Kokken selbst ist eine tiefdunkelblaue, ihre Form ist meist rundlich, seltener oval; in ihrer Größe differieren sie nur wenig. Zwischen ihnen und der deutlich konturierten Kapsel liegt eine lichtere Zone, die zuweilen von hellen, ungefärbten Feldern durchsetzt ist.

Die Mehrzahl der Kokken liegt zu zweien nebeneinander, so daß eine Semmelform entsteht.

Man kann Ketten bis zu 6 Gliedern beobachten; einmal lag eine Kette von 5 Gliedern dicht hinter einer anderen von 6 Gliedern in derselben Längsachse, der trennende Spalt hatte etwa die Breite eines Coccus. Da die beiden gegenüberliegenden Endglieder in der Form sich genau glichen und in mehreren Nachbarfeldern kein weiterer Streptococcus mucosus sichtbar war, so handelte es sich hier wohl um eine gerissene Kette von 11 Gliedern. Ein Endglied überragt meist an Größe die übrigen. Die Ketten sind meist gerade gestreckt, einzelne zeigen eine leichte Biegung etwa in Form eines Bummerangs.

Erwähnen möchte ich noch, daß an den Stellen, wo ein Kapselcoccus einem Erythrocyten angelagert ist, die Kapselhülle eine erhebliche Verbreiterung und Verdunkelung der Kontur zeigt.

Die größere Zahl der Kokken trägt an der Außenseite der Kapsel eine rötlich gefärbte Schicht, die man wohl nach dem makroskopischen Verhalten des Mikroorganismus in der Kultur, das ihm den Beinamen „mucosus“ einbrachte, als Schleim auffassen darf. Sie umgibt die Kapsel des Einzelcoccus meist schalenförmig, entweder nur auf der einen Halbkugel oder ihn ganz umschließend. Die Dicke der Schleimschicht kann die Hälfte des Kapselcoccus erreichen, so daß ein Gebilde entsteht, das durch seine Größe dem Untersucher sofort auffällt. Bei den Ketten überspannt der Schleim die Einbuchtungen zwischen den einzelnen Gliedern oder umhüllt sie ganz, nur die Pole bleiben frei.

Die Oberfläche des Schleims ist bei den Ketten nicht glatt, sondern gekerbt, so daß flache Buckel entstehen. Einmal lag einer 6-gliederigen Kette seitlich vom 2. Glied, wo letztere eine leichte Knickung aufwies, ein wasserhelles Bläschen an (Pseudodichotomie?). Es kann sich um austretenden Kapselinhalt oder um Ausstoßung eines degenerierten Kapselcoccus (s. unten) handeln.

Man geht wohl nicht fehl, in der Schleimabsonderung einen sekretorischen Vorgang anzunehmen, eine Stoffwechselerhöhung, den Ausdruck vermehrter Lebensenergie des Mikroorganismus. Mit dieser Schleimproduktion dürften die oben erwähnten hellen Felder im Zellleib in Verbindung zu bringen sein.

Im Ausstrich aus dem Warzenteil liegen nur wenige Exemplare intracellulär, der opsonische Index scheint in dem vorliegenden Falle kein

hoher gewesen zu sein (oder die Mikroorganismen sind sehr schnell von den Leukocyten verdaut worden). Wo die Kapsel noch erhalten ist, liegt rings um sie herum eine von neutrophilen Granula freie Zone (Resorptionsvorgang?). Meist ist die Kapsel verloren gegangen, wohl infolge Einwirkung verdauender leukocytärer Fermente. Zuweilen sieht man längere Ketten in den Granulocyten eingebettet; die einzelnen Glieder kann man nur durch ihre Lagerung — kugelige Gebilde, die in einer geraden Linie in gleichen Abständen folgen — als Streptokokkenreihen erkennen und mit Sicherheit von Kernteilen unterscheiden, denn in manchen Leukocyten ist das Kernchromatin emulsionsartig in dem Zellleib aufgelöst.

Die Teilung des Streptococcus mucosus erfolgt in einer zur Längsachse senkrechten Ebene. Zunächst kommt es scheinbar zur Einschnürung der Kapsel, dann zur Teilung des Kernes.

Als der Degeneration verfallen sind wohl diejenigen Kokken aufzufassen, welche nicht den dunklen Farbenton der schleimtragenden Zellen aufweisen, sondern deren Leib ganz hell gefärbt ist. Die Kapselmembran erscheint auch hier sehr scharf gezeichnet, ihr Inhalt glasig. Entweder ist die Kapsel leer, oder die Kerne sind so schwach gefärbt, daß man sie kaum erkennen kann. Bei Einzelindividuen sah ich häufig den Chromatinrest zusammengesintert als blau-schwarz gefärbten kleinen Buckel der Innenseite der Kapselhülle anliegen. Diese dem Untergange verfalllenen Formen sah ich nie mit einer Schleimhülle bekleidet, die Schleimproduktion hatte überall sistiert.

Die Maysche Färbemethode, deren besonderer Vorzug für die Kapsel- und Schleimdarstellung in der kalten Fixation liegt, zeigt am Streptococcus mucosus: 1) Den Kern (Coccus), 2) einen Zellleib, welcher von einer deutlichen Zellhülle umgeben wird und 3) an der Außenfläche der letzteren als Zellprodukt eine schleimige Masse.

Für unsere klinischen Zwecke ist die Kürze des Verfahrens von großem Werte, so konnte ich z. B. in einem Operationsfalle wenige Minuten nach der Entnahme flüssigen Blutes aus dem freigelegten Sinus transversus neben einer beträchtlichen Leukocytose das Vorhandensein von Diplokokken im strömenden Blute konstatieren, wodurch das weitere operative Vorgehen in entsprechender Weise beeinflußt wurde.

Meinem hochverehrten Chef, Prof. Dr. Bezold, spreche ich für die Ueberlassung des Materials meinen verbindlichsten Dank aus.

Sur la recherche du bacille typhique dans le pharynx des malades de la fièvre typhoide.

Par Dr. **M. Manicatide**, Professeur de Clinique infantile, à Jassy.

Le diagnostic bactériologique de la fièvre typhoïde se fait d'habitude par l'examen du sang, des matières fécales ou des urines. Les meilleurs résultats obtenus par l'examen des urines et des matières fécales ont donné le diagnostic positif dans 33 % des cas de fièvre typhoïde incontestable; l'examen du sang réclame la ponction de la veine qui n'est pas toujours facile et agréable pour le malade, sans compter les complications possibles.



En considération du fait que l'infection typhique envahit l'organisme par la bouche et que souvent les premières manifestations apparaissent du côté du pharynx, nous avons cherché le bacille typhique dans les sécrétions des amygdales et du pharynx. Nous nous sommes servis du milieu de culture de Drigalski et Conradi un peu modifié et d'un sérum agglutinant préparé au laboratoire de la clinique. Dans 51 cas examinés de cette manière, nous avons trouvé le bacille 36 fois, ce qui donne une proportion de 70 %. Cette recherche réclame 48—72 heures et le malade n'est incommodé que fort peu par l'attouchement du pharynx à l'aide d'un tampon stérilisé.

Par cette méthode de diagnostic de la fièvre typhoïde nous avons pu préciser la nature d'une série de cas de fièvres légères sur lesquels on aurait pu se méprendre. On connait bien maintenant l'importance, au point de vue hygiénique, des cas légers de maladies infectieuses, surtout non diagnostiquées, pour introduire dans la pratique journalière cette méthode simple et rapide de diagnostic bactériologique de la fièvre typhoïde.

Studien über Hetero- und Isantagonismus, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse bei infektiösen Erkrankungen der Harnwege.

[Arbeit aus dem „Statens Seruminstitut" in Kopenhagen. Direktor: Dr. Th. Madsen.]

Von Dr. **R. Faltin** aus Helsingfors.

Mit 1 Abbildung.

(Schluß.)

In einigen Fällen, wo der Coli-Bacillus nur 4—5 Tage in dem ungewöhnlich stark sauren Harn allein leben konnte, konnte eine enorme Pyocyaneus-Majorität, statt ihn zu erdrücken, ihm im Gegenteil das Leben auf Monate verlängern, also ganz in Uebereinstimmung mit dem, was zwischen dem Coli-Bacillus und dem Staphylococcus der Fall sein konnte.

In einem Harn, wo der Pyocyaneus nur ca. 3 Wochen lebte und ungewöhnlich rasch und kräftig den Harn ammoniakalisch zersetzte, verliefen die Kombinationen Coli = Pyocyaneus und Pyocyaneus > Coli so, daß nach ca. 2 Wochen resp. nach einer Woche der Harn steril war, nachdem wenigstens in der ersten Kombination der Coli-Bacillus früher gestorben war.

Wurde der steril gewordene Harn neutralisiert, in 2 Portionen geteilt und dann Bacterium coli resp. Bacillus pyocyaneus eingeimpft, so entstand von neuem Wachstum. In diesem Harn verlief die Kombination Coli > Pyocyaneus dagegen so, daß das Leben des Pyocyaneus außerordentlich, wenigstens $2^1/_2$ Monat, verlängert wurde. Also konnten beide Bakterien unter Umständen einander das Leben verlängern. Pyocyaneus konnte dem Coli-Bacillus das Leben verkürzen, aber umgekehrt konnte der Coli-Bacillus nicht das Verschwinden der anderen Bakterie weder in Flaschen noch in Blasen zustande bringen.

Aehnliche Resultate lieferten Versuche mit 2 anderen Coli-Arten.

Nicht ohne Interesse waren die Versuche mit Pyocyaneus- und Coli-Harnfiltraten und den gleichnamigen Bakterien.

3 Coliharnfiltrate von 3, 6 und 9 Tage alten Coli-Harnen, dieselben, mit welchen schon eine große Anzahl Versuche vorgenommen worden war und wobei die stärkste Hemmung auf den Coli-Bacillus bei dem 9-tägigen Filtrate konstatiert worden war, wurden je mit 10 verschiedenen Pyocyaneus-Dosen geimpft. Es zeigte sich nun die auffallende Tatsache, daß, während das 6- und 9-tägige Filtrat keine oder so gut wie keine Hemmung auf den Pyocyaneus ausübte, das 3-tägige, das jüngste Filtrat von allen, eine deutliche Hemmung aufwies. Die schließliche Trübung, d. h. die Totalzahl der Bakterien, war dagegen nach einiger Zeit etwas größer in den jüngeren als in den älteren Filtraten.

Der Versuch wurde mit 3 anderen 2-, 9- und 15-tägigen Coli-Filtraten wiederholt und ergab dasselbe Resultat. Auf den Coli-Bacillus wirkten die Filtrate kräftig hemmend ein, am kräftigsten das 15-tägige Filtrat; auf den Pyocyaneus übte nur das 2-tägige eine geringe Hemmung aus, die kräftigste Trübung entstand aber doch schließlich bei diesem, dem jüngsten Filtrate.

Diese Tatsachen scheinen dafür zu sprechen, daß die den Coli-Bacillus hemmenden Stoffe nicht den Pyocyaneus hemmen, sondern daß hier möglicherweise andere Stoffe mit im Spiele sind, welche übrigens sehr wirksam sind und sehr schnell aus den Kulturen verschwinden. Vielleicht handelt es sich hier um Säuren, denn das jüngste Filtrat hatte die stärkste Azidität, nämlich 2,4 gegen 1,0 bei den beiden anderen.

Selbstverständlich wurden umgekehrt Pyocyaneusharnfiltrate verschiedenen Alters in Bezug auf ihre eventuelle wachstumhemmende Wirkung auf die beiden Bakterien untersucht.

Es kamen Filtrate von 2-, 4-, 8-, 14- und 60-tägigen Pyocyaneus-Harnen zur Untersuchung. Der 60-tägige Harn war nicht von derselben Herkunft wie die übrigen Harne.

Es stellte sich nun heraus, erstens daß der Pyocyaneus sehr wenig gehemmt wurde, ja, weniger als der Coli-Bacillus, und zweitens daß das 8-tägige Filtrat die deutlichste Wirkung entfaltete; das 14-tägige und 60-tägige lieferten eine bessere und schnellere Trübung als das 8-tägige Filtrat. Noch deutlicher zeigte sich die kräftigere Wirkung auf die fremde, als auf die arteigene Bakterienart in den Bouillonfiltraten. In 2, 3 und 30 Tage alten Pyocyaneusbouillonfiltraten wuchs der Pyocyaneus noch leidlich, der Coli-Bacillus nur in dem 3-tägigen, aber gar nicht in den 30-tägigen. Dieses wirkte also bakterizid auf den Coli-Bacillus.

Das Verhalten des Staphylococcus zu Bacterium pyocyaneus. In den Blasenversuchen behielt der Pyocyaneus immer das Uebergewicht, ohne jedoch merkbar die Zahl der Staphylokokken zu verringern. In den Flaschenversuchen dagegen behielt der Staphylococcus immer die Oberhand, unabhängig von dem primären numerischen Verhältnis. Als Beispiel sei hier folgender Versuch angeführt:

No. 22. 18000 Mill. Pyocyaneus + 190 Staphylokokken aus Agaraufschwemmungen werden in 200 ccm Harn getan. Schon nach einem Tage finden sich Staphylokokken in den Platten. Nach 11 Tagen Staphylokokken in Reinkultur. Der Staphylococcus lebte längere Zeit in diesem Harn, als allein in dem Kontrollharn [1]).

1) In dem hierhergehörigen Blasenversuche war nach 5 Tagen eine große Pyo-



Wurde der Versuch statt mit Agaraufschwemmungen mit 1-tägigem Pyocyaneus-Harn vorgenommen, so kam ganz dasselbe Resultat heraus.

Die umgekehrte Kombination Staphylococcus > Pyocyaneus soll auch durch ein Beispiel erläutert werden:

No. 20. 7600 Mill. Staphylokokken + 450000 Pyocyaneus aus Agaraufschwemmungen werden in 200 ccm Harn geimpft. Anfangs gutes Wachstum von beiden; Pyocyaneus in der Majorität. Nach 3 Tagen der Staphylococcus in der Majorität und nach 6 Tagen in Reinkultur. Harn steril nach < 12 Tagen.

Wenn man statt einer Agaraufschwemmung einen 1-tägigen Staphylokokkenharn verwandte, konnte der Pyocyaneus sich gar nicht entwickeln. Dasselbe war der Fall auch mit älteren, schon steril gewordenen Staphylokokkenharnen. Wurde der Harn aber neutralisiert, so konnte sich der Pyocyaneus gut entwickeln. Es kann also kein Zweifel daran bestehen, daß der Staphylococcus den Pyocyaneus, ganz ebenso wie den Coli-Bacillus, durch die ammoniakalische Harnzersetzungsprodukte vernichtet.

Daß der Pyocyaneus eine, wenn auch sehr geringe Entwickelungshemmung auf den Staphylococcus ausübte, scheint mir daraus hervorzugehen, daß dieser länger in Pyocyaneus-Harn, als in normalem Harn lebte.

Das Verhalten des Proteus zu den übrigen Bakterien. Schließlich wäre noch zu besprechen, wie der Proteus sich gegen den Pyocyaneus verhielt. Aus praktischen Gründen kann das Verhalten des Proteus auch gegenüber den anderen Bakterien am besten an dieser Stelle erörtert werden.

Am 5. November wurden 4 Flaschen mit 200 ccm Harn mit Staphylokokken, Streptokokken, Pyocyaneus und Coli-Bacillen geimpft. Nach 24 Stunden wurden diese 4 Harne und noch eine 5. Flasche zur Kontrolle mit je 40 Proteus-Bacillen geimpft. Die untenstehende Tabelle zeigt den Ausgang des Versuchs:

	No. 100. Coli > Proteus		No. 101. Staph. > Prot.	
Datum	Reaktion	Kulturen	Reaktion	Kulturen
6./11.	— 3,6		— 1,8	
7./11.	— 3,0	60 Mill. Coli + 70000 Prot.	+ 16	Prot. > Staph.
8./11.	+ 12	Prot. > Coli	+ 28	Prot. = Staph.
10./11.	+ 24	Prot. > Coli	+ 35	steril
14./11.	+ 30	steril	+ 38	steril

	No. 102. Strept. > Prot.		No. 103. Pyocyan. > Prot.		No. 104. Proteus allein	
Datum	Reaktion	Kulturen	Reaktion	Kulturen	Reaktion	Kulturen
6./11.	— 3,6		— 2,8		+ 24	4000000
7./11.	— 3,4	Strept. > Prot.	+ 20	Prot. > Pyocyan.	+ 36	+
8./11.	+ 24	Prot. > Strept.	+ 36	Prot. = Pyocyan.	+ 34	+
10./11.	+ 36	Strept. in Reinkultur	+ 40	steril	+ 37	steril
14./11.	+ 36	steril				

cyaneus-Majorität vorhanden. Die künstliche Blase wurde nun in den Wärmeschrank für 4 Tage gestellt. Der Harn enthielt dann Staphylokokken in Reinkultur und war nach einigen weiteren Tagen steril.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß der Harn schnell eine bedeutende Alkaleszenz erhielt und bald steril wurde. Der Pyocyaneus ebenso wie der andere Ammoniakbildner, der Staphylococcus, beschleunigten diesen Vorgang und schienen die Alkaleszenz etwas in die Höhe zu treiben. Der Coli-Bacillus und der Streptococcus bewirkten gerade das Gegenteil. Es dauerte deswegen einige Tage länger in den beiden Versuchen No. 100 und No. 102, ehe der Urin steril wurde. Hervorzuheben ist, daß in No. 102 der Streptococcus eine Zeitlang zuletzt allein am Leben war. Es wäre aber sehr verfrüht, den Schluß daraus ziehen zu wollen, daß dieser den Proteus vernichtet hätte. Unzweifelhaft waren es die ammoniakalischen Harnzersetzungsprodukte, welche die beiden Bakterienarten zu Grunde richteten. Der Streptococcus war vermutlich resistenter als der Proteus. Daher sein längeres Leben. Dies Verhalten des Streptococcus gegenüber dem Proteus wurde übrigens durch mehrere andere Versuche bestätigt.

Zusammenfassung.

Die Untersuchungen haben deutlich gezeigt, wie kompliziert die Frage von dem Antagonismus zwischen den Harnbakterien ist. Sie wird wahrscheinlich erst dann ihre Lösung finden, wenn wir alle die Prozesse, welche jede Bakterienart für sich allein im Harn hervorruft, ebenso wie die Einwirkung, welche die verschiedenen Stoffwechselprodukte auf die eigene und auf fremde Bakterienarten ausüben, genau haben kennen lernen. Zu solchen Untersuchungen wäre ein in seiner Zusammensetzung genau bekannter künstlicher Nährboden viel geeigneter als der Harn.

Ehe der Isantagonismus völlig aufgeklärt ist, wird man nicht mit viel Aussicht auf Erfolg an den Heteroantagonismus herangehen können.

Um nun zu den anfangs aufgestellten Fragen zurückzukehren, so muß unbedingt zugegeben werden, daß in den Reagenzglasversuchen (Flaschenversuchen) ein Antagonismus zwischen den meisten der untersuchten Bakterien sich wohl konstatieren ließ, oder, richtiger ausgedrückt, daß im allgemeinen 2 gleichzeitig in einem Harn kultivierte Bakterien nicht ohne Einfluß aufeinander waren. In den sogenannten Blasenversuchen, wo die Verhältnisse diejenigen in der menschlichen Harnblase mit Hinsicht auf die kontinuierliche Zuströmung von Harn und die periodisch stattfindende Entleerung nachgeahmt worden waren, war der Einfluß entweder nicht nachweisbar oder gering oder erreichte nur in einigen Kombinationen von Staphylokokken und Coli-Bacillen einen solchen Grad, daß die eine Art, hier der Staphylococcus, von der anderen verdrängt wurde.

Wenn nun die Resultate der Flaschenversuche nur ein theoretisches Interesse, aber nicht die geringste praktische Bedeutung besitzen, da ja die Verhältnisse bei dem lebenden Menschen doch ganz anders liegen, so scheinen mir die Blasenversuche doch einen gewissen Wert für die uns hier interessierenden Fragen beanspruchen zu können. Will man also einen Bakterienantagonismus mit irgend welcher Aussicht auf Erfolg bei infektiösen Erkrankungen der Harnwege therapeutisch verwenden, so kann man nur die Ergebnisse der Blasenversuche, und dies mit allem Vorbehalt, verwerten.

Vorausgesetzt, daß ein gewisser Staphylokokkenstamm durch einen Coli-Bacillus, in Analogie mit den Blasenversuchen, auch aus der

menschlichen Blase vertrieben werden könnte, so scheint mir doch eine absichtliche Infektion des Harns mit dem für die Harnwege pathogenen Coli-Bacillus sehr verfrüht und absolut nicht erlaubt zu sein. Denn erstens sind die Staphylokokken nach meinen und anderer Erfahrungen sehr empfindlich gegenüber jeder Therapie, so daß man mit der gewöhnlichen Therapie vollkommen auskommt, und zweitens sind wir gegenüber den Coli-Bacillen fast vollkommen machtlos, wenn sie sich einmal in die Harnwege eingenistet haben. Unsere Anstrengungen müssen sich deswegen, wie schon anfangs erwähnt, der Aufgabe zuwenden, ein zuverlässiges Verfahren zu finden, um die Coli-Bacillen aus den Harnwegen zu vertreiben. Und gerade mit Rücksicht auf die schlechten Resultate in der Behandlung der Coli-Infektionen mit der gewöhnlichen Therapie scheint mir hier eher ein Versuch mit antagonistisch wirkenden Bakterien zulässig. Ein erfolgreiches diesbezügliches Verfahren müßte als ein bedeutender Fortschritt in unserem therapeutischen Können bezeichnet werden.

Schlußfolgerungen.

1) Für die Beurteilung der Frage, ob ein Antagonismus beim Wechsel der Bakterienflora in den Harnwegen eine Rolle spielt, können die Resultate von Reagenzglasversuchen (Flaschenversuchen) gar nicht und diejenigen von Versuchen in künstlichen Harnblasen, wo doch die Verhältnisse denjenigen in der menschlichen Harnblase, wenigstens in Bezug auf die kontinuierliche Zuströmung von Harn und die periodisch stattfindende Entleerung, ähnlich sind, nur mit äußerster Vorsicht verwertet werden.

2) Flaschen- und Blasenversuche, die unter sonst ähnlichen Bedingungen angestellt werden, können diametral entgegengesetzte Resultate liefern. Dies gilt speziell für Versuche, wo die eine Bakterienart ein harnzersetzender Staphylococcus und die andere entweder ein Coli-Bacillus oder ein Pyocyaneus ist.

3) Für den Ausgang eines Flaschenversuches ist das primäre numerische Verhältnis der beiden Bakterien von ausschlaggebender Bedeutung.

4) Für den Ausgang eines Blasenversuches ist das primäre numerische Verhältnis der beiden Bakterien belanglos. Die Vermehrungsgeschwindigkeit und, mit aller Wahrscheinlichkeit, antagonistisch wirkende Stoffwechselprodukte der schneller sich vermehrenden Bakterie sind hier neben dem mechanischen Vorgang der Blasenentleerung die wirksamen Faktoren.

5) In den allermeisten Harnkulturen resp. in deren Filtraten können Hemmungserscheinungen sowohl gegen die eigene als gegen fremde Bakterien nachgewiesen werden. Mitunter wird die eigene, mitunter die fremde Art kräftiger gehemmt.

6) Der Staphylococcus entfaltet im Harn sowohl is- als heteroantagonistische Wirkungen, welche im intimsten Zusammenhang mit der durch die ammoniakalische Harnzersetzung erzeugten Reaktionsveränderung stehen und auf Stoffwechselprodukte zurückzuführen sind. Die is- und heteroantagonistischen Stoffe im Staphylokokkenharn sind wahrscheinlich identisch.

7) Der Colibacillus erzeugt im Harn sowohl is- als heteroantagonistische Erscheinungen, welche wahrscheinlich auf der Gegenwart filtrierbarer, thermolabiler und adsorbabler Stoffwechselprodukte beruhen. Die is- und heteroantagonistischen Stoffe sind vermutlich identisch.

8) Als Ursache zu dem Absterben der Bakterien in Coli-Harnkulturen kommen außer den isantagonistischen Hemmungsstoffen noch eine gewisse Verarmung des Nährbodens und vielleicht noch andere unbekannte Momente in Betracht.

9) Das Verhalten des Colibacillus zu dem Staphylococcus. Der Staphylococcus kann in Flaschenversuchen den Coli-Bacillus töten, und zwar um so rascher, je größer seine Anfangsdosis. Umgekehrt kann der Coli-Bacillus die Entwickelung des Staphylococcus sehr verzögern, seine Alkalibildung beschränken und sein Leben außerordentlich verlängern. Bei großer numerischer Ueberlegenheit kann der Coli-Bacillus eine gewisse Staphylokokkenmenge sogar töten.

10) Das Verhalten des Colibacillus zu dem Pyocyaneus. In Blasenversuchen kann die eine Art die andere nicht verdrängen. In Flaschenversuchen kann der Coli-Bacillus das Leben des Pyocyaneus mitunter verlängern, aber nie verkürzen. Der Pyocyaneus dagegen verkürzt gewöhnlich das Leben des Coli-Bacillus ein wenig. Nur in sehr saurem Harn kann er das Leben des Coli-Bacillus ausnahmsweise verlängern. Pyocyaneus-Bouillonfiltrate sind sehr stark hemmend resp. bakterizid gegenüber dem Coli-Bacillus.

11) Das Verhalten des Colibacillus zu dem Streptococcus. In Blasenversuchen ist die gegenseitige Beeinflussung kaum merkbar oder fällt etwas zu Gunsten des Coli-Bacillus aus. In Flaschenversuchen kann der Streptococcus mitunter den Coli-Bacillus in seiner Entwickelung hemmen. Das Umgekehrte scheint nicht vorzukommen.

12) Das Verhalten des Pyocyaneus zu dem Staphylococcus. In Blasenversuchen übt der Pyocyaneus eine geringe Hemmung auf den Staphylococcus aus. In Flaschenversuchen ist eine gegenseitige Beeinflussung erkennbar. Doch siegt der Staphylococcus stets.

13) Das Verhalten des Proteus zu dem Colibacillus, dem Staphylococcus, dem Streptococcus und dem Pyocyaneus. In Flaschenversuchen ist eine gegenseitige Beeinflussung unverkennbar. Der Proteus verkürzt das Leben der anderen Bakterien. Von diesen können der Coli-Bacillus und der Streptococcus das Leben des Proteus verlängern, der Staphylococcus und der Pyocyaneus dasselbe dagegen verkürzen.

Für den Proteus gilt sonst das in 6) über den Staphylococcus Angeführte.

Es bleibt mir noch die angenehme Pflicht, Herrn Dr. Thorwald Madsen meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen, nicht nur für seine Liebenswürdigkeit, mir einen Arbeitsplatz in dem „Statens Seruminstitut“ überlassen zu haben, sondern auch für das rege Interesse und die wertvollen Ratschläge, die er mir während meiner Arbeit stets hat zu teil werden lassen.

Nachtrag zur Korrektur.

Auf die interessante, von Manteufel jüngst publizierte Arbeit: Das Problem der Entwickelungshemmung in Bakterienkulturen etc. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. LVII. 1907. p. 337), welche erschien, als mein Manuskript schon längst druckfertig vorlag, ist es mir nicht mehr möglich, näher einzugehen.

Literaturverzeichnis.

Baisch, Bakteriologische und experimentelle Untersuchungen über Cystitis nach gynäkologischen Operationen. (Beitr. z. Geburtsh. u. Gynäk. von Hegar. Bd. VIII. Heft 2.)
Bienstock, Du rôle des bactéries de l'intestin. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1900.)
Bloch, Et Indlaeg i Spørgsmaalet om Bacterium coli's Antagonisme mod de øvrige Urinbakterier. (Hosp. tid. 1899. No. 34.)
Bosselini, Il Bacterium coli nella cistite dell' uomo. (Giorn. Ital. delle mal. vener. e della pelle. Vol. XXXIV. Ref. im Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sex.-Org. Bd. XIV. 1903. p. 34.)
Brudzinski, Ueber das Auftreten von Proteus vulgaris in Säuglingsstühlen, nebst einem Versuch der Therapie mittels Darreichung von Bakterienkulturen. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LII. 1900.)
Burchard, Beiträge zur Kenntnis des Ablaufs und der Größe der durch Micrococcus ureae liquefaciens bewirkten Harnstoffzersetzung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVI. 1899. p. 264.)
Clarke and Maxwell, The relation of Bacillus coli communis to other organisms in the urine. (Brit. med. Journ. 1899. 25. Nov.)
Conradi, Ueber die Bildung bakterizider Stoffe bei Autolyse. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. von Hofmeister. Bd. I. 1902. p. 193.)
Conradi und Kurpjuweit, Ueber die Bedeutung der bakteriellen Hemmungsstoffe für die Physiologie und Pathologie des Darmes. (Münch. med. Wochenschr. 1905.)
— —, Ueber spontane Wachstumshemmung der Bakterien infolge Selbstvergiftung. (Ibid. No. 37, 45, 46.)
De Jäger, Die Verdauung und Assimilation des gesunden Säuglings, nebst einer rationellen Methode zur Säuglingsernährung. Berlin 1898.
Duclaux, Traité de bactériologie. I. 1898.
Eijkman, Ueber thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII.)
— —, Ueber die Ursache der Wachstumshemmung in Bakterienkulturen. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 16.)
— —, Ueber natürliche Wachstumshemmung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 367.)
— —, Ueber die Ursache der Wachstumshemmung in Bakterienkulturen. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 7.)
Emmerich und Löw, Die künstliche Darstellung der immunisierenden Substanzen etc. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI.)
— —, Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten durch dieselben. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXI.)
Emmerich, Löw und Korschun, Die bakteriolytische Wirkung der Nukleasen etc (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXI.)
Faltin, Recherches bactériologiques sur l'infection vésicale spécialement au point de vue de la variabilité de la flore bactérienne. (Ann. des mal. des org. gén. urin. 1902. Daselbst Literaturverzeichnis.)
Fibiger, Bakteriologiske Studier over Diphtheri. Kopenhagen 1895.
— —, Ueber Bekämpfung von Diphtherieepidemieen etc. (Berl. klin. Wochenschr. 1897.)
Forcart, Ein Beitrag zur Frage des Antagonismus zwischen B. coli und den harnstoffzersetzenden Bakterien. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sex.-Org. Bd. XIV. 1904.)
Hallé et Dissard, Culture du Bacterium coli dans l'urine. (Annal. des malad. des org. gén. urin. 1893.)
Hesse und Niedner, Die quantitative Bestimmung von Bakterien in Flüssigkeiten. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LIII. 1906. Heft 2.)
Konrádi, Ueber die Lebensdauer pathogener Bakterien im Wasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. No. 2.)
Krencker, Ueber Bakterizidie von Bakterienkulturen. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1903.
Krogius et Wallgren, Note sur l'antagonisme entre le Bactérium coli et les autres bactéries urinaires. (Annal. des malad. des org. gén. urin. 1899.)
Löbel, Ueber die Beeinflussung der Darmflora durch Yoghurt. (Die Therapie der Gegenwart. 1907.)
Lode, Experimentelle Untersuchungen über Bakterienantagonismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 196.)

Manteufel, Untersuchungen über die „Autotoxine" (Conradi) und ihre Bedeutung als Ursache der Wachstumshemmung in Bakterienkulturen. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 11.)
— —, Das Problem der Entwickelungshemmung in Bakterienkulturen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVII. 1907. p. 337.)
Melchior, Die Bedeutung des Bacterium coli für die Pathologie der Harnwege. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sex.-Org. Bd. VIII. 1897.)
— —, A propos des études cliniques et expérimentales sur les affections des voies urinaires de M. Th. Rovsing. (Annal. des malad. des org. gén. urin. 1898.)
Menge und Krönig, Bakteriologie des weiblichen Genitalkanales. 1899.
Passini, Die bakteriellen Hemmungsstoffe Conradis und ihr Einfluß auf das Wachstum der Anaërobier des Darmes. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. 24. Mai.)
Rolly, Experimentelle Untersuchungen über das biologische Verhalten der Bakterien im Dickdarm. (Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 43.)
Rostoski, Ueber den bakteriziden Einfluß der Acidität des Harns auf die Cystitiserreger. (Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 15 u. 16.)
Rovsing, Kliniske og experimentelle Studier over Urinorganernes infectiöse Sygdomme. Kjöbenhavn 1897. (Dasselbe in Annal. des malad. des org. gén. urin. 1897/1898.)
— —, Cystitis og Bacterium coli. (Ugeskr. for Laeger. 1897.)
— —, Om Bacterium coli's og de ammoniogene Mikrobers forskellige Betydning for de infektiöse Urinvejslidelsers Opstaaen. (Hospitaltidende. 1899.)
— —, Bacterium coli's Antagonisme mod visse andre Urinbakterier. (Ibid.)
Sirotinin, Ueber die entwickelungshemmenden Stoffwechselprodukte der Bakterien und die sogenannte Retentionshypothese. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. IV. 1888. p. 262.)
Tissier, Semaine méd. 1906. No. 9. p. 104.
Weiss, Zur Kenntnis der Darmflora. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 15.)

Bemerkungen zur Spirochäten- und Vaccinefrage.

Literaturnachlese.

Von **Prowazek.**

Beim Durchlesen der Literatur des letzten Jahres fand ich verschiedene Angaben, die sich auf meine Arbeiten beziehen und auf die ich hier teilweise zurückkommen möchte.

1) Swellengrebel schreibt in Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXI. No. 6. p. 456: „Prowazek dit que „periplasts" signifie une sorte d'enveloppe pelliculeuse, qui recouvre le protoplasma vivant ... etc. ... Comme exemples de periplasts, il cite la membrane ondulante des Spirochètes et des Flagelles. Il est pourtant clair que cette conception n'est pas juste. La membrane ondulante des Spirochètes ne constitue certainement pas un periplaste dans le sens de Prowazek, car elle est sans doute constituée de plasma vivant etc. ..."

Dazu möchte ich folgendes bemerken: Ob der Periplast lebende Substanz ist oder nicht, konnte ich gar nicht diskutiert haben, da ich ein Problem der „lebendigen Substanz" nicht anerkenne, das Leben ist für mich ein Problem der Aktualität, nicht der Substanzialität. Doch dieses ist nur eine Annahme, etwa im Sinne von Meinong. Da ich aber die Existenz des Periplasts an nach Loeffler gebeizten Präparaten studierte, fiel es mir damals überhaupt nicht ein, über dessen Leben und Tod auf Grund von fixierten und erwärmten Präparaten zu entscheiden.

Meines Wissens habe ich seine alveolare Struktur nicht geleugnet, sie auch für Trypanosomen nachgewiesen und abgebildet (Arbeiten aus

dem kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXII. 1905. Heft 2. Figg. 10, 12, 57, 69). Sie wäre aber selbst im Sinne der Fragestellung von Swellengrebel für das „Leben“ nicht beweisend, weil eine Reihe von verschiedenen Kolloiden nach den Untersuchungen von Bütschli und Hardy auch Alveolarstruktur besitzen. Ich setzte das Entoplasma mit dem Ausdruck „rein plasmatisch“ insofern zu dem Periplast in einen Gegensatz, als dieser sich mit Giemsas Eosinazur anders als das eigentliche Ektoplasma färbt, ferner gegen Pepsin- und Trypsinverdauung sowie gegen Einflüsse von Saponin und Sapotoxin im Gegensatz zu dem Protoplasma ziemlich resistent ist. Dasselbe gilt bezüglich der Salzlösungen und des Druckes. Diese Merkmale genügen aber, um ihn von dem Ektoplasma, etwa einer Amoeba, eines Myxosporids etc. zu unterscheiden.

Um weitere Mißverständnisse zu vermeiden, möchte ich meine von mehreren Seiten angegriffenen Spirochätenuntersuchungen hier kurz zusammenfassen: Die Spirochäten sind flexibel, ihr Körper ist mehr oder weniger bandförmig, etwa so, wie die Geißeln und Flagellen der meisten daraufhin untersuchten Flagellaten und Ciliaten; zu mindesten ist er nicht drehrund (vielleicht bildet die Treponema eine Ausnahme).

Außen wird der Körper von einem Periplast (alveolar, von Fibrillen durchzogen, resistent gegen Trypsinverdauung, Saponin) umhüllt, der terminal in Endfortsätze (Endgeißeln) ausläuft (1—2 in der Zahl), die genetisch auf die letzte Verbindungsbrücke zwischen den Tochterindividuen zurückzuführen sind. Eine peritriche Begeißelung existiert nicht. Eine stärker differenzierte Periplastfibrille ruht in der einen Kante des Spirochätenbandes und ist morphologisch mit der undulierenden Membran zu vergleichen. Mit Sicherheit kann ohne Mühe die undulierende Membran bei vielen (nicht allen) Spirochaeta balbianii und anodontae nachgewiesen werden. Mit Schwierigkeit ist ihr Nachweis bei den kleineren Spirochäten verbunden. Bei Spirochaete dentium sah ich sie nie und zweifle an deren Existenz bei Treponema. Das Chromatin ist in Form von unregelmäßigen Körnern reihenweise in der Zelle verteilt und bildet zuweilen einen soliden Kernstab. Vermehrung ist Längsteilung.

Die ersten Teilungsstadien sind selten zu finden, sind aber bei Spirochaete balbianii und anodontae vollkommen beweisend. Ich konnte sie bis jetzt ferner bei allen kleineren Spirochäten, mit Ausnahme von Spirochaete dentium, der Anginaspirochäte, der europäischen Recurrensspirochäte, einer Spirochäte aus einem Unterkieferabsceß des Schimpanse, aus dem Darm des Hundes und der Katze, sowie der Spirochaete plicatilis beobachten. Daß kleine Spirochäten neben großen Formen vorkommen, ist kein Beweis gegen die Existenz der Längsteilung, es gibt ja auch große und kleine Trypanosomem in derselben Ratte oder in demselben Schaflausmagen. Wie alle bis jetzt bekannten Mikroorganismen (sowohl Bakterien als Protozoen), besitzen auch die Spirochäten Ruhestadien — dicht eingerollte, schließlich kugelige Formen, die von den Phagocytoseformen Levaditis oder Kochsalzformen, z. B. der Mundspirochäten, wohl zu unterscheiden sind; sie erklären vielleicht die Rezidive sowie den Infektionsmodus bei Frambösie und Ulcus tropicum. Andere Entwickelungsformen sind vorläufig hypothetisch, am auffallendsten scheinen mir die breiten und schmalen, starr aussehenden Formen bei Ulcus tropicum zu sein.

Spirochaete gallinarum sowie wahrscheinlich die afrikanische Recurrensspirochäte, dringen zuweilen in rote Blutzellen, die Luesspirochäten in Epithelzellen, die Darmspirochäten des Hundes und der Katze in Darmepithelzellen aktiv ein. Der Einwand von Novy und Knapp, daß sie Spirochäten in reinem Serum ohne Zellzusatz zu Vermehrung bringen konnten, so daß demnach die oben mitgeteilte Tatsache höchstens nur ein „Zufall" wäre, ist von derselben biologischen Dignität, als wenn ein Gärtner behaupten würde, Begonien besitzen keine Samen, da er sie immer nur durch Stecklinge fortgepflanzt hatte.

Von einem aktiven Einwandern der Bakterien, wie es Sobernheim mit den Worten „so ist ja der Zellparasitismus auch bei den Bakterien eine weitverbreitete Erscheinung" (Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. 1. Ergänzungsbd. p. 527) als allgemein hinstellt, ist mir — ich bin in dieser Frage allerdings nicht kompetent — nichts bekannt, die Bakterien werden zumeist durch Phagocytose aufgenommen und können sich sekundär in den geschwächten Zellen zuweilen vermehren; in manchen Fällen werden sie z. B. in die Holmgrenschen Kanälchen der Ganglienzellen mit der „Lymph"-Flüssigkeit eingeschwemmt, bei den Insekten sind sie größtenteils richtige Symbionten. — Bezüglich der Immunität der Spirochaete gallinarum nehme ich eine echte Serumimmunität an; die Phagocytose, die ich gelegentlich dabei sah, spielt eine sekundäre Rolle. Die Phagocytose ist im Pfeifferschen Versuch bei der Recurrensspirochäte häufiger als bei Spirochaete gallinarum. Dieses Resumee ist ein Ergebnis einer erneuten Revision meiner Spirochätenuntersuchungen, die ich vorläufig abgeschlossen habe.

2) Im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIII. 1907. p. 672 berichtet Saul über meine negativen Resultate bei Impfungen mit Kohlkrebsstücken — die Resultate waren nicht bloß negativ, sondern derartige Versuche sind von mir niemals angestellt worden.

3) Bezüglich der Vaccinearbeit von Aldershoff und Broers (Ann. d. l'Inst. Past. 1906. p. 779—84) möchte ich folgendes bemerken:

a) Niemals habe ich angenommen, daß die Guarnierischen Körperchen ausgestoßene Nukleolen oder Centrosomen sind, vielmehr faßte ich die genannten Körperchen als Reaktionsprodukte der genannten Zelle auf das eingedrungene Virus in dem Sinne auf, als die Chromatin- + Plastinsubstanzen der Zelle, die ja nach den neueren Forschungen nicht allein an den Zellkern gebunden sind (Hertwig, Schaudinn, Goldschmidt, Ružička etc.), sich um die ersten eingedrungenen Erreger in spezifischer Weise gleichsam zusammenballen.

b) Stellte ich nicht die Lymphkörperchen als die Erreger der Vaccine hin, sondern vermutete dieses von den Initialkörpern.

c) Konnte ich **nie** mit dem Nierensaft der Kaninchen im positiven Sinne impfen (gegen 100 Versuche, die bis jetzt angestellt worden sind). Mit diesem Resultat steht auch das Vorhandensein einer lokalen, histogenen Immunität der Cornea im Einklang.

Hamburg, November 1907.

Untersuchungen über Spirochaete pallida bei kongenitaler Syphilis.

[Aus der pathologischen Abteilung des Karolinischen Institutes in Stockholm.]

Von Dr. **G. Hedrén,** Assistenten und Prosektor.

Mit 4 Figuren.

Solange man noch nicht durch Reinkulturimpfungen die ätiologische Bedeutung der Spirochaete pallida feststellen kann, ist es gewiß berechtigt, vorläufig durch andere Methoden nach dem Ziele zu streben. Dieses bedeutet durchaus keine Unterschätzung der bekannten Forderungen Kochs, die ihrer logischen Richtigkeit wegen stets bestehen bleiben, sondern sagt nur, daß wir in der Wissenschaft vorläufig auch Wahrscheinlichkeiten oft einen Wert zuerkennen müssen. Aber gerade so lange wir nur mit Wahrscheinlichkeiten rechnen, ist es von Wert, wenn die betreffenden Fragen von verschiedenen, voneinander ganz unabhängig arbeitenden Forschern studiert werden. Aus diesem Grunde darf ich auch folgende Untersuchung hier vorlegen, trotzdem bereits so vieles über das Vorkommen der Spirochaete pallida bei kongenitaler Syphilis geschrieben worden ist. Es scheint mir eine Veröffentlichung auch deswegen gestattet, weil es sich um einen Befund handelt, der noch heute verschieden beurteilt wird.

Wenn nun auch die Bedeutung der Spirochaete pallida als Erreger der Syphilis nicht durch histologische Untersuchungen bewiesen werden kann, haben doch die bisherigen Untersuchungen über das Vorkommen der Spirochäte in den Geweben syphilitischer Individuen gezeigt, daß man wenigstens viele Wahrscheinlichkeitsgründe in dieser Hinsicht vorbringen kann. Die Bedeutung, welche die Versilberungsmethode (Levaditi und Bertarelli-Volpino) dabei gewonnen hat, geht aus der betreffenden Literatur hervor. Wie bekannt, haben jedoch einige Forscher, vor allem Saling und Siegel, sehr heftige Angriffe gegen diese Methode gerichtet. Hier die streitigen Ansichten zu erörtern, halte ich für ganz unnötig, da sie ja allbekannt sind. Ebenso wäre es unnütz, auf die umfangreiche Literatur näher einzugehen, die entstanden ist, seitdem Schaudinn und Hoffmann im April und Mai 1905 über ihre Entdeckung berichteten, weil ja mehrere sehr vollständige Literaturberichte schon bestehen (Glass, Buschke und Fischer, Hoffmann). Von Arbeiten aus der allerletzten Zeit sei unter vielen anderen nur auf diejenigen von Benda, Mühlens, Gierke, Schmorl, Ehrmann und ganz neulich Bab besonders hingewiesen.

Ich gehe nun zu meinen eigenen Untersuchungen über. Im ganzen sind 47 Leichen neugeborener oder sehr junger Kinder von mir genau untersucht worden. Das Material, mit Ausnahme eines Falles, stammt aus der hiesigen Gebäranstalt „Södra Barnbördshuset“, und sämtliche Fälle sind von mir selbst seziert. Der erste Fall wurde anfangs Januar 1906 untersucht, die anderen Fälle sind, je nachdem sie zur Sektion kamen, untersucht worden.

Zunächst, bevor ich auf die Untersuchungsresultate eingehe, einige Worte über die Untersuchungstechnik. Sowohl die Methode Levaditis wie die von Bertarelli und Volpino sind zur Anwendung gekommen; auch die späteren Modifikationen dieser Methoden sind in mehreren Fällen geprüft worden. Im großen und ganzen habe ich mit der alten Methode Levaditis die besten Resultate erhalten. In der Regel habe ich mit einer 2-proz. Silberlösung gearbeitet und die Zeit im Brutschrank bei 37° C öfters bis 7, 8 oder 9 Tage lang ausgedehnt, was ich vielmals vorteilhaft gefunden habe. Immer wurden dunkle Flaschen angewendet, sowie alle Manipulationen, wenn möglich, im Dunklen vorgenommen. Bei Entkalkung habe ich 5-proz. Trichloressigsäure verwendet mit nachfolgendem Auswaschen in fließendem Wasser während mindestens 48 Stunden, und zwar mit sehr gutem Resultate. Nach dem Auswaschen habe ich in der Regel die kleinen Stücke 24 Stunden in 10-proz. Formalin gebracht und bin dann nach Levaditi verfahren, habe jedoch immer die Präparate 8 Tage im Brutschrank gehalten. Bei Nachfärbung habe ich sowohl die meisten schon von Anderen empfohlenen Methoden geprüft, wie auch viele andere Farben versucht, aber im großen und ganzen habe ich die beste Färbung bei den schon von Levaditi erwähnten Methoden, Giemsa-Lösung oder Thionin, erhalten.

Das erwähnte Material kann ihrer Natur nach in 3 Gruppen verteilt werden.

Die erste Gruppe umfaßt 14 Fälle, bei welchen schon durch die Anamnese Syphilis auszuschließen war, und auch bei der Sektion keine Zeichen einer syphilitischen Erkrankung beobachtet werden konnten; 10 Fälle betrafen lebend geborene Kinder, 4 Fälle vor oder während der Geburt gestorbene. Untersucht wurden folgende Organe: Herz, Lunge, Thymus, Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, Pankreas, Hoden (Ovarien), Darm, Knochenmark, Gehirn, sowie in 5 Fällen auch das Rückenmark. In keinem von diesen Fällen konnten mit der Versilberungsmethode Spirochäten nachgewiesen werden.

Die zweite Gruppe umfaßt 12 Fälle, bei denen die Leiche so hochgradig mazeriert war, daß bei der Sektion eine Beurteilung irgend welcher pathologisch-anatomischen Veränderungen nicht möglich war. In 3 Fällen wurden Spirochäten gefunden, und zwar in reichlicher Menge und in den verschiedensten Organen. Trotz der hochgradigen Mazeration konnten aber in den anderen 9 Fällen Spirochäten nicht nachgewiesen werden.

Die dritte und für die Frage wichtigste Gruppe umfaßt 21 Fälle, wobei in jedem Falle bei der Sektion Syphilis pathologisch-anatomisch diagnostiziert werden konnte. Von diesen 21 Fällen betreffen 6 lebend geborene Kinder, 15 vor der Geburt gestorbene. Es sind besonders diese 21 Fälle, über die ich unten berichten will. In jedem Falle wurden folgende Gewebe untersucht: Herz, Lunge, Thymus, Milz, Leber, Niere, Nebenniere, Pankreas, Hoden (Ovarien), Darm, Knochenmark; daneben in 10 Fällen auch das Gehirn, sowie in 2 Fällen das Rückenmark und in 4 Fällen die Haut.

Ich will ein für allemal vorausschicken, daß ich bei der Beurteilung, ob sich Spirochäten in einem Präparate vorfanden oder nicht, nur völlig typische Formen, die deutlich und gut imprägniert waren, berücksichtigt habe. Wo sogenannte Degenerationsformen oder ähnliches zu beobachten war, wird dieses ganz besonders angegeben.

Den Befund bei den lebend geborenen Kindern will ich mehr eingehend für jeden einzelnen Fall besprechen; von den anderen Fällen wird eine mehr summarische Darstellung geliefert. Bei jedem Falle werden zuerst die pathologisch-anatomischen Veränderungen ganz kurz erwähnt.

Fall I. Männliches Kind im Alter von 1 Monat 17 Tagen gestorben. Sektion 7. Januar 1906, 10 Stunden nach dem Tode.

Pathologisch-anatomischer Befund. Die Milz sehr vergrößert, Gewicht 30 g, fest, auf dem Durchschnitt dunkelrot. Diffuse, ziemlich ausgesprochene Bindegewebsvermehrung. Die Leber sehr vergrößert, Gewicht 300 g; sehr fest, auf dem Durchschnitt graugelb, glatt und ohne acinöse Struktur. Mikroskopisch eine diffuse, die ganzen Acini durchziehende Bindgewebshyperplasie von teils mehr zellenreichem und faserigem, teils mehr zellenarmem und homogenem Aussehen. Zahlreiche, aber sehr kleine, nekrotische Herde, besonders in den periportalen Bezirken, welche Herde von Rundzellen umgeben sind. Sämtliche anderen Organe ohne Veränderung; normale Ossifikationsgrenzen.

Spirochätenbefund.

Milz. In den hyperplastisch verdickten Milzbalken sieht man zahlreiche Spirochäten, welche die verschiedensten Richtungen gegen die Längsfaserung der Balken einnehmen. Die Spirochäten sind jedoch nicht diffus und überall zu sehen, sondern ein herdförmiges Aussehen scheint die Regel zu sein. Daneben kommen sie stellenweise in großer Menge in den Wandungen der kleinen Gefäße der Pulpa vor und dann sieht man auch in der umgebenden Pulpa zahlreiche Exemplare. Sonst finden sich in der Milzpulpa nur hie und da wenige Exemplare.



Fig. 1. Querschnitt von einem kleinen Gallengange. Zahlreiche Spirochäten im Epithel des Ganges; auch im Lumen mehrere Spirochäten. Zeiss, Immers. 2 mm, Komp.-Ok. 8.

Leber. Aeußerst zahlreiche Spirochäten, die teils mehr diffus zerstreut liegen, und dann stellenweise relativ spärlich, teils in mehr begrenzten, kolonieartigen Anhäufungen. Am zahlreichsten findet man sie in dem hyperplastischen Bindegewebe, aber in nicht geringer Anzahl auch in den Leberzellen selbst und dabei oft mehrere in jeder Zelle. Sie kommen sehr zahlreich ebenfalls in den Gallengängen vor, in und zwischen den Cylinderzellen, aber auch in dem Lumen der Gänge (s. Fig. 1). Zahlreich sind sie ferner in den Wandungen der kleinsten periportalen Gefäße; nicht so selten kann man dabei einzelne Exemplare in dem Gefäßlumen zwischen den roten Blutkörperchen sehen. Die Stellen, welche den erwähnten nekrotischen Herden entsprechen, zeigen konstant ein stark körniges, schwarzbraun gefärbtes Zentrum, während der periphere Teil des Bezirkes sehr schöne Spirochäten aufweist; zwischen dem zentralen und dem peripheren Teil ist eine Zone mit zahlreichen Bildungen, die wie Bruchstücke von Spirochäten aussehen.

Niere. Spirochäten nur sehr spärlich vorhanden. Sie liegen fast ausschließlich intracellulär in den Epithelien der gewundenen Kanälchen und der Markkanäle; sonst vereinzelt in dem Bindegewebe.

Nebenniere. Hier kommen die Spirochäten äußerst zahlreich vor — ganz wie in der Leber — und fast ebenso zahlreich im Marke wie in der Rinde. Sie liegen teils in dem intercellulären Bindegewebe, das als Fortsetzung der Bindegewebskapsel ins Innere des Organs eindringt, teils zwischen den Parenchymzellen, letzteres besonders in der Rinde. Häufig sieht man Spirochäten auch in den Zellen selbst, nicht selten 3 bis

4 Exemplare in einer Zelle. Im Mark kommen sie ebenfalls in den Gefäßen vor, mitten zwischen den Blutkörperchen. Die Bindegewebskapsel enthält ebenfalls Spirochäten, jedoch nicht so zahlreich wie das Organ selbst.

Pankreas. Einzelne Spirochäten in dem interstitiellen Bindegewebe.

Darm. Nur hie und da in der Schleimhaut vereinzelte Spirochäten.

Lunge. Wenige Exemplare hie und da in den Alveolensepta.

In Herz, Thymus, Hoden, Knochenmark, Gehirn und Haut konnten Spirochäten nicht nachgewiesen werden.

Fall II. Männliches Kind im „Allgemeinen Waisenhause" aufgenommen; $2^1/_2$ Monate alt gestorben. Klinische Diagnose: Lues congenita. Sektion 5. April 1906, 36 Stunden nach dem Tode.

Pathologisch-anatomischer Befund. Die Leber vergrößert, fest, auf dem Durchschnitt gelblich-braunrot; Schnittfläche glatt ohne Läppchenzeichnung. Hochgradige, diffuse Hyperplasie des Bindegewebes, stellenweise mit kleinen, nekrotischen, von Rundzellen umgebenen Herden, besonders in den periportalen Bezirken des Leberparenchyms. Die Milz vergrößert, mäßig fest, auf dem Durchschnitt dunkelbraunrot; keine oder keine nennenswerte Vermehrung des Bindegewebes. Die Verkalkungszone des unteren Endes des Femurs verbreitert, uneben, gelblich-weiß gefärbt; mikroskopisch unregelmäßige Markraumbildung und Kalkablagerung, aber nur geringe Zellvermehrung. Andere Organe ohne bemerkenswerte Veränderungen.

Spirochätenbefund.

Leber. Stellenweise zahlreiche Spirochäten in dem Granulationsgewebe zwischen den Leberzellen, stellenweise nur mehr vereinzelte Exemplare. Entsprechend den nekrotischen Herden ähnliche Bilder wie im obigen Fall I. Nicht selten eine oder mehrere Spirochäten auch in den Leberzellen selbst. Bemerkenswert gegenüber Fall I ist, daß die Gefäßwände nur wenige Spirochäten enthalten. In den Leberzellen oft Bildungen, die wie Bruchstücke von Spirochäten aussehen.

Milz. Spirochäten nur spärlich vorhanden; hauptsächlich zwischen den Zellen der Pulpa, fast niemals in den Bindegewebsbalken.

Niere. Nur vereinzelte Exemplare in den Wandungen der kleineren Gefäße. Dagegen kommen vielfach im Epithel, vor allem in demjenigen der gewundenen Kanälchen, Bilder vor, die wie in Auflösung befindliche Spirochäten aussehen; die Bildungen liegen fast ausschließlich in dem basalen Teile der Zelle.

Nebenniere. Vereinzelte Spirochäten in dem Bindegewebsstroma.

Darm. Ebenfalls nur vereinzelte Exemplare hier und da in der Schleimhaut.

Thymus. Nur vereinzelte Spirochäten in den Gefäßwandungen.

Knochenmark (bei der unteren Femurepiphyse). Spirochäten in den Markräumen rings um die Gefäße, jedoch sehr spärlich.

In Herz, Lunge, Pankreas, Hoden, Gehirn und Rückenmark keine Spirochäten.

Fall III. 1 Tag altes Kind, weiblichen Geschlechts; 1 Monat zu früh geboren. Syphilis der Mutter. Sektion 17. Mai 1906, 20 Stunden nach dem Tode.

Pathologisch-anatomischer Befund. Die Lungen nur partiell lufthaltig; an anderen Stellen luftleer, derb. Besonders diese letzten Partieen zeigen einen atypischen Bau des Lungengewebes. Das Lungenbindegewebe ist der Sitz einer hyperplastischen, zelligen Wucherung; die Alveolenwände sind verdickt und die kleinen Arterien haben verdickte und zellig infiltrierte Wandungen. In den Alveolen eine reichliche Menge verfettetes Epithel. Das Epithel der kleinen Bronchien ist abgehoben und liegt neben mehr oder weniger zahlreichen Leukocyten frei im Lumen. Die Milz ist stark vergrößert, Gewicht 25 g, fest, auf dem Durschschnitt dunkelrot. Diffuse Vermehrung des Bindegewebes. Die Verkalkungszone des unteren Endes des Femurs ist verbreitet, uneben, grauweiß gefärbt; Unregelmäßigkeit der Markräume und der Verkalkungszone mit ziemlich reichlicher Zellvermehrung.

Die anderen Organe, auch die Leber zeigen keine Veränderungen.

Spirochätenbefund.

Lunge. Aeußerst zahlreiche Spirochäten, vor allem in den Alveolenwänden und den Wänden der kleinsten Bronchien. Die Wandungen größerer Gefäße zeigen nur wenige, die der kleineren zahlreiche Spirochäten. Ebenfalls in den Alveolenräumen und in dem Lumen der Bronchien (Fig. 2) reichliche Mengen Spirochäten zwischen und nicht selten auch in den Zellen selbst und dabei sowohl in den Epithelzellen wie in den Leukocyten.



Fig. 2. Teil von einem quergeschnittenen kleinen Bronchus. Zahlreiche Spirochäten im Lumen zwischen den Leukocyten wie auch in den Zellen selbst. Das Epithel fast völlig frei von Spirochäten; dagegen in der Wand des Bronchus zahlreiche Spirochäten. Zeiss, Immers. 2 mm, Komp.-Ok. 8.

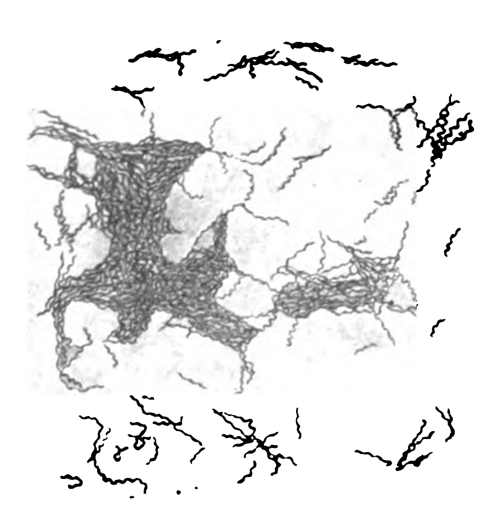


Fig. 3. Konvolute von Spirochäten im Lumen eines Bronchus. Zeiss, Immers. 2 mm, Komp.-Ok. 8.

In den kleinsten Bronchien sieht man häufig viele Spirochäten in den Epithelien; stellenweise kann das Epithel, auch wenn im Lumen zahlreiche Spirochäten liegen, völlig frei von Spirochäten sein. Hie und da sieht man im Bronchiallumen völlige Konvolute von in- und umeinander gewundenen Spirochäten (Fig. 3), welche Herde bei schwacher Vergrößerung nur als schwarzgefärbte Flecken hervortreten. Stellenweise können dabei die Spirochäten so zahlreich sein, daß die Konvolutenherde nur in ihrer periphersten Zone deutliche Spirochäten erkennen lassen.

Herz. Hie und da zwischen den Muskelfasern vereinzelte Spirochäten.

Leber. Nur sehr wenige Spirochäten, teils in dem Bindegewebe, teils in den Leberzellen.

Niere. Vereinzelte Spirochäten in den Wandungen der kleineren Gefäße.

Darm. Ebenfalls nur sehr wenige Exemplare, ausschließlich in der Schleimhaut.

Knochenmark (unteres Ende des Femurs). In den Markräumen spärliche, aber sehr schöne Spirochäten.

In Thymus, Milz, Nebenniere, Pankreas, Ovarien, Gehirn konnten Spirochäten nicht nachgewiesen werden.

Fall IV. Einen Tag altes, ausgetragenes Kind, männlichen Geschlechts. Syphilis der Mutter. Sektion 31. Aug. 1906, 20 Stunden nach dem Tode.

Pathologisch-anatomischer Befund. Die Leber vergrößert, fest; auf dem Durchschnitt gelblich-rotbraun gefärbt, glatte Schnittfläche ohne Läppchenzeichnung. Diffuse, aber mäßige Bindegewebshyperplasie; hie und da kleine Nekrosen von Rundzellen umgeben. Die Milz stark vergrößert, Gewicht 30 g; mäßig fest; Schnittfläche dunkelrot. Keine, wenigstens keine nennenswerte Vermehrung des Bindegewebes. Die Verkalkungszone des unteren Endes des Femurs sehr verbreitet und uneben, gelbgrau gefärbt. Reichliche Zellvermehrung in den unregelmäßig geformten Markräumen.

Die anderen Organe ohne Veränderungen.

Spirochätenbefund.

Leber. Zahlreiche Spirochäten fast ausschließlich in dem hyperplastischen Bindegewebe; hie und da jedoch in den Leberzellen selbst. Die Verbreitung der Spirochäten ist aber nicht diffus, sondern ausgesprochen herdweise. Stellenweise sieht man in den Blutkapillaren einzelne Spirochäten zwischen den roten Blutkörperchen. Phagocytosenartige Bildungen, ganz wie die schon beschriebenen, kommen ebenfalls nicht so selten vor.

Milz. Ziemlich reichliche Menge Spirochäten in der Wand der kleineren Gefäße, ebenfalls, obwohl weniger zahlreich, in der Pulpa.

Niere. Nur vereinzelte Exemplare in dem Bindegewebe. Dagegen in den Epithelzellen zahlreiche Bildungen, die wie Bruchstücke von Spirochäten aussehen, ganz so wie im Fall II.

Nebenniere. Aeußerst zahlreiche Spirochäten, vor allem in der Zona fasciculata und Zona reticularis der Rinde, wo sie teils rings um die kleinsten Gefäße liegen, teils auch zwischen den Zellen des Parenchyms; nicht so selten liegen sie in den Zellen selbst. Weniger zahlreich sind sie in der äußersten Zone der Rinde und im Marke. In der Kapsel sieht man nur vereinzelte Exemplare; ebenso in den gröberen bindegewebsartigen Fortsetzungen derselben ins Innere des Organs. Stellenweise, besonders im Marke, Spirochäten auch im Lumen der Blutgefäße.

Lunge. Nur wenige Exemplare in den Alveolensepta und in der Wand der kleineren Blutgefäße.

Knochenmark (unteres Ende des Femurs). Sehr zahlreiche Spirochäten (Fig. 4). Sie liegen teils in den Gefäßwänden, teils und sehr reichlich in den Markräumen zwischen den Zellen; einzelne auch in den Markzellen selbst.

Fig. 4. Schnitt vom Knochenmarke des Femurs an der unteren Epiphyse. Zahlreiche Spirochäten zwischen den Markzellen. Zeiss, Immers. 2 mm, Komp.-Ok. 8.

In Herz, Thymus, Pankreas, Darm, Hoden, Gehirn und Haut konnten Spirochäten nicht nachgewiesen werden.

Fall V. 1 Monat altes, ausgetragenes Kind, männlichen Geschlechts. Sektion 4. Jan. 1907, 34 Stunden nach dem Tode.

Pathologisch-anatomischer Befund. Die Leber vergrößert, fest; auf dem Durchschnitt graugelb; die Schnittfläche glatt ohne Läppchenzeichnung. Hochgradige, diffuse Hyperplasie des Bindegewebes, stellenweise von dem Charakter einer Hepatitis gummosa.

Die Milz vergrößert, mäßig fest; Schnittfläche dunkelrot. Keine nennenswerte Vermehrung des Bindegewebes.

Die Verkalkungszone des unteren Endes des Femurs verbreitert, uneben, gelbgrau gefärbt. Unregelmäßige Markräume mit mäßiger Zellvermehrung.
Die anderen Organe ohne Veränderungen.

Spirochätenbefund.

Leber. Spirochäten sehr zahlreich vorhanden. Wenn auch diffus verbreitet, so haben sie doch eine ausgesprochene Tendenz zu herdförmigen Anhäufungen. Sehr häufig kommen sie in den Leberzellen selbst vor, sonst liegen sie in dem hyperplastischen Bindegewebe. In vielen Zellen sieht man Bilder, als ob es sich um einen intracellulären Zerfall der Spirochäten handelte.

Lunge. Vereinzelte Spirochäten in der Wand der kleineren Gefäße.

Nebenniere. Wenige Spirochäten hie und da in dem bindegewebsartigen Gerüst der Rinde.

Pankreas. Vereinzelte Spirochäten in dem interstitiellen Bindegewebe.

Knochenmark (unteres Ende des Femurs). Hie und da wenige Spirochäten in den Gefäßwänden, sowie ebenfalls einzelne in den Markräumen.

In Herz, Thymus, Milz, Niere, Darm, Hoden, Gehirn und Haut keine Spirochäten.

Fall VI. 2 Tage altes, fast ausgetragenes Kind, männlichen Geschlechts. Syphilis der Mutter. Sektion 12. Juli 1907, 40 Stunden nach dem Tode.

Pathologisch-anatomischer Befund. Die Leber vergrößert, fest; auf dem Durchschnitt gelblichrot; die Schnittfläche glatt ohne Läppchenzeichnung. Mäßige diffuse Hyperplasie des Bindegewebes. Die Milz vergrößert, sehr fest. Ziemlich hochgradige Hyperplasie des Bindegewebes mit Verdickung der Gefäßwände. Die Nieren zeigen mikroskopisch hie und da in der Rinde kleine Herde von Rundzellen mit faseriger Hyperplasie des Bindegewebes. Das Pankreas vergrößert, sehr fest und derb. Das Bindegewebe innerhalb der Drüse verdickt und verhärtet mit Rundzelleninfiltration. Die Verkalkungszone des unteren Endes des Femurs ist verbreitert, uneben, gelblichgrau gefärbt. Unregelmäßigkeit der Markräume mit reichlicher Zellvermehrung.
Die anderen Organe ohne Veränderungen.

Spirochätenbefund.

Leber. Spirochäten kommen verhältnismäßig nur spärlich vor; sie liegen meistens in dem Bindegewebe und in den Gefäßwänden. Vereinzelt auch in den Leberzellen.

Milz. Wenige Exemplare hie und da in den verdickten Balken. Keine in der Pulpa.

Niere. Vereinzelte Spirochäten, am meisten in dem Epithel der gewundenen Kanälchen.

Nebenniere. Nur wenige Exemplare in dem Marke. Häufig intracellulär. In der Rinde fast keine.

Pankreas. Hier kommen sie zahlreich vor in dem verdickten und zellig infiltrierten Bindegewebe des Organs.

Knochenmark (unteres Ende des Femurs). Sehr zahlreiche Spirochäten in größeren Herden oder Gruppen; teils in den Gefäßwänden und in den Bindegewebsbalken, teils, und zwar sehr zahlreich, in den Markräumen zwischen deren Zellen.

In Herz, Lungen, Thymus, Darm, Hoden, Gehirn, Rückenmark und Haut konnten Spirochäten nicht nachgewiesen werden.

Eine Zusammenfassung obiger Ergebnisse scheint mir am besten erst nach Mitteilung der Untersuchungen der Fälle totgeborener Kinder zu erfolgen. Von diesen letzteren gebe ich zuerst eine tabellarische Uebersicht, wobei ich, um einen Vergleich mit dem Befund bei lebend geborenen Kindern zu ermöglichen, in der Tabelle auch diesen Befund aufnehme. In der Tabelle beziehen sich also die 6 ersten auf die obenerwähnten Fälle lebend geborener Kinder:

Tabellarische Uebersicht der untersuchten syphilitischen Fälle.
0 keine Spirochäten gefunden; + wenige Spirochäten; ++ zahlreiche Spirochäten; +++ sehr zahlreiche Spirochäten; ++++ äußerst zahlreiche Spirochäten.

Fall, Datum der Sektion	Alter, Krankengeschichte	Pathologisch-anatomischer Befund	Vorkommen der Spirochäten	
			Gewebe	Befund
I. 7. 1. 1906	Ausgetragenes Kind nach 1 Monate 17 Tagen gestorben	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung mit Bindegewebshyperplasie	Herz	0
			Lunge	+
			Thymus	0
			Leber	++++
			Milz	+++
			Niere	+
			Nebenniere	++++
			Pankreas	+
			Darm	+
			Hoden	0
			Knochenmark	0
			Gehirn	0
			Haut	0
II. 5. 4. 1906	2½ Monate altes Kind. Syphilis der Mutter	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung ohne nennenswerte Hyperplasie des Bindegewebes. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	0
			Thymus	+
			Leber	+++
			Milz	+
			Niere	+
			Nebenniere	+
			Pankreas	0
			Darm	+
			Hoden	0
			Knochenmark	+
			Gehirn	0
			Rückenmark	0
III. 17. 5. 1906	1 Tag altes Kind, 1 Monat zu früh geboren. Syphilis der Mutter	Pneumonia syphilitica. Milzvergrößerung mit diffuser Hyperplasie des Bindegewebes. Osteochondritis syphilitica	Herz	+
			Lunge	++++
			Thymus	0
			Leber	+
			Milz	0
			Niere	+
			Nebenniere	0
			Pankreas	0
			Darm	+
			Ovarien	0
			Knochenmark	+
			Gehirn	0
IV. 31. 8. 1906	1 Tag altes, ausgetragenes Kind. Syphilis der Mutter	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung ohne nennenswerte Hyperplasie des Bindegewebes. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	+
			Thymus	0
			Leber	+++
			Milz	++
			Niere	+
			Nebenniere	++++
			Pankreas	0
			Darm	0
			Hoden	0
			Knochenmark	+++
			Gehirn	0
			Haut	0
V. 4. 1. 1907	1 Monat altes, ausgetragenes Kind	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung ohne nennenswerte Hyperplasie des Bindegewebes. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	+
			Thymus	0
			Leber	+++
			Milz	0
			Niere	0

Fall, Datum der Sektion	Alter, Krankengeschichte	Pathologisch-anatomischer Befund	Vorkommen der Spirochäten	
			Gewebe	Befund
			Nebenniere	+
			Pankreas	+
			Darm	0
			Hoden	0
			Knochenmark	+
			Gehirn	0
			Haut	0
VI. 12. 7. 1907	2 Tage altes, fast ausgetragenes Kind. Syphilis der Mutter	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung mit Hyperplasie des Bindegewebes. Pancreatitis interstitialis. Nephritis interstitialis. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	0
			Thymus	0
			Leber	+
			Milz	+
			Niere	+
			Nebenniere	+
			Pankreas	++
			Darm	0
			Hoden	0
			Knochenmark	+++
			Gehirn	0
			Rückenmark	0
			Haut	0
VII. 30. 4. 1906	Fast ausgetragenes Kind; etwas maceriert	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Pancreatitis interstitialis. Osteochondritis syphilitica	Herz	+
			Lunge	++
			Thymus	++++
			Leber	++++
			Milz	++
			Niere	+++
			Nebenniere	+
			Pankreas	++
			Darm	+++
			Hoden	++
			Knochenmark	+++
			Gehirn	+
VIII. 17. 7. 1906	Ausgetragenes Kind, etwas mazeriert	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	+
			Thymus	+
			Leber	++-
			Milz	0
			Niere	++
			Nebenniere	++
			Pankreas	0
			Darm	+
			Hoden	+
			Knochenmark	0
IX. 14. 8. 1906	Fötus im 7. Monat; etwas mazeriert. Syphilis der Mutter	Pneumonia syphilitica. Milzvergrößerung	Herz	+
			Lunge	+++
			Thymus	+
			Leber	+
			Milz	0
			Niere	0
			Nebenniere	++
			Pankreas	0
			Darm	+
			Hoden	0
			Knochenmark	0
			Gehirn	0

Fall, Datum der Sektion	Alter, Krankengeschichte	Pathologisch-anatomischer Befund	Vorkommen der Spirochäten	
			Gewebe	Befund
X. 20. 8. 1906	Ausgetragenes Kind, mäßig mazeriert	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	0
			Thymus	++
			Leber	+++
			Milz	0
			Niere	0
			Nebenniere	++
			Pankreas	+
			Darm	0
			Hoden	+
			Knochenmark	++
XI. 28. 8. 1906	Fast ausgetragenes Kind, etwas mazeriert. Syphilis der Mutter	Pneumonia syphilitica. Milzvergrößerung. Osteochondritis syphilitica	Herz	+
			Lunge	+++
			Thymus	+
			Leber	+
			Milz	+
			Niere	0
			Nebenniere	0
			Pankreas	+
			Darm	+
			Hoden	0
			Knochenmark	+
			Gehirn	0
XII. 26. 10. 1906	Fast ausgetragenes Kind, etwas mazeriert. Syphilis der Mutter	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Pancreatitis interstitialis. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	+
			Thymus	+
			Leber	+++
			Milz	++
			Niere	0
			Nebenniere	+
			Pankreas	++
			Darm	+
			Hoden	0
			Knochenmark	++
XIII. 30. 10. 1906	Fötus im 8. Monat, mäßig mazeriert. Syphilis der Mutter	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Osteochondritis syphilitica	Herz	+
			Lunge	+++
			Thymus	++
			Leber	++++
			Milz	+++
			Niere	+
			Nebenniere	+++
			Pankreas	0
			Darm	++
			Hoden	+
			Knochenmark	++
XIV. 5. 11. 1906	Fötus im 8. Monat, etwas mazeriert. Syphilis der Mutter	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Pneumonia syphilitica. Osteochondritis syphilitica	Herz	+
			Lunge	+++
			Thymus	++
			Leber	++++
			Milz	++++
			Niere	++++
			Nebenniere	++++
			Pankreas	+
			Darm	++
			Hoden	+
			Knochenmark	++

Fall, Datum der Sektion	Alter, Krankengeschichte	Pathologisch-anatomischer Befund	Vorkommen der Spirochäten	
			Gewebe	Befund
XV. 14. 1. 1907	Fast ausgetragenes Kind, mäßig maze-riert	Pneumonia syphilitica. Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Nephritis interstitialis. Osteochondritis syphilitica	Herz	+
			Lunge	++
			Thymus	++
			Leber	++++
			Milz	++++
			Niere	+++
			Nebenniere	++++
			Pankreas	+
			Darm	++
			Ovarien	+
			Knochenmark	++
			Gehirn	+
XVI. 8. 2. 1907	Fötus im 7. Monat, mäßig mazeriert. Syphilis der Mutter	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung	Herz	0
			Lunge	++
			Thymus	++
			Leber	+++
			Milz	+++
			Niere	+
			Nebenniere	+++
			Pankreas	+
			Darm	++
			Ovarien	0
			Knochenmark	++
XVII. 21. 3. 1907	Ausgetragenes Kind, etwas mazeriert	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Osteochondritis syphilitica	Herz	0
			Lunge	+
			Thymus	0
			Leber	+++
			Milz	+
			Niere	0
			Nebenniere	++
			Pankreas	+
			Darm	0
			Hoden	+
			Knochenmark	++
XVIII. 17. 4. 1907	Fötus im 8. Monat, mäßig mazeriert	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung	Herz	+
			Lunge	++
			Thymus	0
			Leber	+++
			Milz	+++
			Niere	++
			Nebenniere	+++
			Pankreas	+
			Darm	+
			Ovarien	0
			Knochenmark	0
XIX. 13. 5. 1907	Fast ausgetragenes Kind, etwas mazeriert	Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung	Herz	+
			Lunge	+
			Thymus	++
			Leber	+++
			Milz	++
			Niere	0
			Nebenniere	++
			Pankreas	+
			Darm	0
			Hoden	0
			Knochenmark	+

Fall, Datum der Sektion	Alter, Krankengeschichte	Pathologisch-anatomischer Befund	Vorkommen der Spirochäten	
			Gewebe	Befund
XX. 26. 7. 1907	Fötus im 8. Monat, etwas mazeriert	Pneumonia syphilitica. Milzvergrößerung. Osteochondritis syphilitica	Herz	+
			Lunge	+++
			Thymus	++
			Leber	++
			Milz	+++
			Niere	+
			Nebenniere	+++
			Pankreas	0
			Darm	++
			Hoden	+
			Knochenmark	++
XXI. 12. 8. 1907	Fötus im 8. Monat, mäßig mazeriert	Pneumonia syphilitica. Hepatitis syphilitica interstitialis diffusa. Milzvergrößerung. Pancreatitis interstitialis. Nephritis interstitialis. Osteochondritis syphilitica	Herz	++
			Lunge	++++
			Thymus	+++
			Leber	++++
			Milz	++++
			Niere	+++
			Nebenniere	++++
			Pankreas	++
			Darm	++++
			Ovarien	+
			Knochenmark	++

Betreffend die nähere Lokalisation und Verbreitung der Spirochäten in den Geweben der obigen 15 Fälle totgeborener syphilitischer Kinder, dürfte folgende mehr summarische Darstellung genügen:

Herz. Spirochäten gefunden in 10 Fällen, jedoch nur wenige, mit Ausnahme eines Falles (XXI), wo sie reichlich vorhanden sind. Sie liegen hier und da zwischen den Muskelfasern, im Falle XXI auch herdweise angehäuft.

Lunge. In 14 Fällen wurden Spirochäten gefunden; in 6 von diesen Fällen sind die Lungen Sitz einer syphilitischen Pneumonie, und bei diesen Fällen sind die Spirochäten zahlreicher vorhanden als in den Fällen, wo die Lungen keine Veränderungen aufweisen, obwohl sie auch bei den letzteren in zahlreicher Menge vorkommen können. Die Verbreitung ist eine diffuse, jedoch mit fast konstanten, herdförmigen Anhäufungen. Am zahlreichsten sind die Spirochäten in den Alveolensepta und rings um die kleinen Venen; ebenfalls sehr zahlreich frei in den Alveolen und den kleineren Bronchien, teils zwischen den dort befindlichen Zellen, teils und nicht so selten auch in denselben.

Thymus. In 13 Fällen konnten Spirochäten nachgewiesen werden und in den meisten Fällen sind sie verhältnismäßig zahlreich vorhanden. Sie liegen vor allem in den Gefäßwänden sowie in den Bindegewebsbalken; in den 2 Fällen, wo die Spirochäten sehr reichlich vorhanden waren, auch in dem adenoiden Gewebe zwischen dessen runden Zellen ziemlich zahlreich.

Leber. In den sämtlichen 15 Fällen wurden Spirochäten nachgewiesen; in 12 Fällen zeigte die Leber mehr oder weniger hochgradige entzündliche Veränderungen in Form einer diffusen, interstitiellen Hepatitis. Die so veränderten Lebern zeigen eine reichlichere Menge Spirochäten als die 3 Lebern, die ohne Veränderungen sind; auch in den letzteren können jedoch die Spirochäten (z. B. Fall XX) reichlich vorhanden sein. Dagegen scheint die Intensität der entzündlichen Prozesse nicht allein bestimmend zu sein für die Menge der Spirochäten, denn letztere können reichlicher vorhanden sein in einem weniger veränderten Organ als in einem solchen, wo die entzündlichen Prozesse mehr ausgebreitet sind. In jedem Falle ist es sehr auffallend, daß die Spirochäten, obwohl sie diffus verbreitet sind, doch immer in herdförmigen Anhäufungen vorkommen. Hinsichtlich der Lokalisation liegen sie teils in dem entzündlich veränderten Bindegewebe, teils auch in den Leberzellen; häufig liegen sie perivaskulär, wobei man hie und da Spirochäten auch in dem Gefäßlumen zwischen den Blutkörperchen findet. In einigen Fällen (z. B. XIV) sieht man überall viele Exemplare in den Leberzellen, und dabei teils völlig unverändert von typischer Form, teils Bildungen, die wie Bruchstücke von Spirochäten aussehen. In 2 Fällen (XV, XVII), wo die Leber zahlreiche nekrotische Herde zeigte, ergaben sich bei der Silberimprägnierung ähnliche Bilder wie sie oben geschildert wurden: unregelmäßig geformte Bildungen, bei denen die zen-

trale Partie aus schwarzbraun gefärbten, kleinen Körnchen, die äußersten Teile aus typischen, sehr schön geformten Spirochäten bestehen; zwischen beiden Partieen eine Zone mit kleinen, schwarz gefärbten Bildungen, die auffallend wie Stücke von Spirochäten aussehen.

Milz. In 12 Fällen wurden Spirochäten gefunden. In den meisten Fällen fehlte eine nennenswerte Hyperplasie des Bindegewebes. Nur in 2 Fällen sind die Spirochäten spärlich vorhanden; in 4 Fällen kommen sie sehr reichlich und in 3 Fällen sogar äußerst zahlreich vor. Sie liegen am meisten in den Bindegewebsbalken sowie in den Gefäßwänden und deren nächster Umgebung. Zwischen den Pulpazellen findet man sie in der Regel mehr spärlich. Auch in der Milz ist eine herdweise Anordnung wahrzunehmen, wenn auch nicht so ausgesprochen wie in der Leber.

Niere. In 9 Fällen wurden Spirochäten nachgewiesen und mit Ausnahme von 3 Fällen, wo sie nur spärlich sind, in reichlicher Menge. Die Nieren zeigen in nur 2 Fällen entzündliche Veränderungen mit Hyperplasie des Bindegewebes. In diesen 2 Fällen (XV, XXI) sind die Spirochäten zwar sehr reichlich vorhanden, aber in den anderen Fällen nicht nur ebenso zahlreich, sondern sogar noch reichlicher (z. B. XIV). In den genannten 2 Fällen liegen die Spirochäten vor allem in dem entzündlichen Zwischengewebe, jedoch nicht wenige auch in den Epithelien der Harnkanälchen. In den anderen Fällen liegen sie teils in dem Bindegewebsstroma, teils in den Epithelien. In einigen Fällen kommen Bilder vor, die als kleine, schwarz gefärbte Körnchen in den Epithelien, besonders in denjenigen der gewundenen Kanälchen hervortreten; diese Körnchen erinnern aber ihrer Anordnung nach in auffallender Weise an Spirochäten, so daß man leicht an eine Art Zerfall der Spirochäten zu denken geneigt ist.

Nebenniere. In 14 Fällen wurden Spirochäten gefunden und zwar mit 2 Ausnahmen in reichlicher Menge. Eine spezifische syphilitische Veränderung konnte in keinem Falle nachgewiesen werden. In der Regel findet man die Spirochäten am zahlreichsten in der Rinde; jedoch kommen Ausnahmen vor. Sie liegen fast gleich zahlreich sowohl in den Bindegewebsbalken wie zwischen den Parenchymzellen; nicht selten auch in denselben. Ebenfalls in den kleinen Blutgefäßen, besonders in denen des Markes, findet man sie nicht selten. In der Kapsel des Organs sieht man bald zahlreiche, bald nur vereinzelte Exemplare.

Pankreas. In 11 Fällen wurden Spirochäten gefunden. In 3 von diesen Fällen lag eine Pancreatitis interstitialis vor; in einem Falle nur wenige Spirochäten, in den zwei anderen reichliche Mengen. Die Spirochäten liegen am meisten in dem Bindegewebe sowie in den Gefäßwänden; vereinzelte auch in den Epithelien.

Darm. In 12 Fällen konnten Spirochäten nachgewiesen werden; in 5 Fällen nur wenige, in den anderen 7 reichlich oder sogar äußerst reichlich. Sie kommen in den verschiedensten Teilen des Darmes vor. Man findet sie durch die ganze Darmwand, aber am häufigsten liegen sie in der Mucosa und Submucosa des Darmes. Sehr zahlreich sind sie ebenfalls in den Darmdrüsen zwischen und auch in den Epithelien.

Hoden. In 11 Fällen wurden die Hoden untersucht und dabei in 6 Fällen Spirochäten gefunden, jedoch nur sehr wenige, mit Ausnahme eines Falles (VII), wo sie reichlich vorhanden sind. Sie liegen in dem Bindegewebsstroma hie und da zerstreut; im Falle VII stellenweise auch in den Hodenkanälchen.

Eierstöcke. Bei den 4 Kindern weiblichen Geschlechts wurden in 2 Fällen Spirochäten gefunden, aber in beiden Fällen nur vereinzelte Exemplare.

Knochenmark. Die Untersuchung bezieht sich auf das untere Ende des Femurs sowie in einigen Fällen ebenfalls auf das obere Ende der Tibia. Von den sämtlichen 15 ist in 12 Fällen (untere Femurepiphyse) eine Osteochondritis syphilitica vorhanden. In 11 Fällen von diesen letzteren konnten Spirochäten nachgewiesen werden. In den meisten Fällen kommen sie reichlich vor, in einem Falle (VII) findet man sie sogar sehr zahlreich. Sie liegen teils perivaskulär, teils frei zwischen den Zellen in den Markräumen.

Gehirn. In 2 von 4 untersuchten Fällen wurden Spirochäten gefunden, aber nur sehr wenige Exemplare ganz vereinzelt hie und da zerstreut.

Bedauerlicherweise ist nicht in allen obigen Fällen geprüft worden, inwiefern die Spirochäten sich auch in Organausstrichen nachweisen lassen. Immerhin habe ich in 8 Fällen Ausstrich- oder Tupfpräparate von mehreren Organen hergestellt; die untenstehende Tabelle stellt die dabei erhaltenen Resultate dar. Die Nummern beziehen sich auf die entsprechenden Fälle in der vorhergehenden Tabelle; Ag. bedeutet den Befund in Schnitten bei Silberimprägnierung; G. den Befund in Ausstrichen nach Färbung mit Giemsa-Lösung.

Fall	Herz		Lunge		Thymus		Leber		Milz		Niere		Nebenniere	
	Ag.	G.	Ag.	G.	Ag.	G.	Ag.	G.	Ag.	G.	Ag.	G.	Ag.	G.
IV.	0	0	+	0	0	0	+++	++	++	+	+	0	++++	++
V.	0	0	+	0	0	0	+++	+	0	0	0	0	+	0
XIII.	+	0	+++	++	++	+	++++	++	+++	++	+	0	+++	++
XIV.	+	0	+++	+	++	+	++++	++	++++	++	++++	++	++++	++
XVII.	0	0	+	0	0	0	+++	++	+	0	0	0	++	0
XVIII.	+	0	++	+	0	0	+++	+	+++	+	++	+	+++	+
XIX.	+	0	+	0	++	+	+++	++	++	0	0	0	++	+
XX.	+	0	+++	++	++	0	++	+	+++	++	+	0	+++	++

Aus der Tabelle ergibt sich, daß, wenn die Spirochäten nicht allzu spärlich in den Organen vorhanden waren, sie auch in Ausstrichen nachgewiesen werden konnten, wobei sich ebenfalls eine gewisse Kongruenz zwischen der Menge der Spirochäten bei Silberimprägnierung und bei Giemsa-Färbung zeigte. Daß man in Organausstrichen die Spirochäten nicht ebenso zahlreich wie in Schnitten findet, ist ja nicht zu verwundern. In 3 späteren Fällen von syphilitischen Föten, die eine sehr hochgradige Mazeration zeigten, gelang es mir dagegen nicht, in Ausstrichen die Spirochäten nach Giemsa zu färben, trotzdem bei Silberimprägnierung zahlreiche Spirochäten nachgewiesen wurden. Dieses stimmt mit der Erfahrung Beitzkes überein, der diesen Umstand von der schädigenden Einwirkung der Mazeration auf die Färbbarkeit herleitet, eine Erklärung, die sehr plausibel scheint.

Bei 21 Kindern oder Föten, die pathologisch-anatomische Veränderungen syphilitischer Natur zeigten, sind also Spirochäten bei der Silbermethode in jedem Falle gefunden und in 8 von diesen Fällen auch in Organausstrichen (Giemsa-Färbung) nachgewiesen worden, während bei 14 nicht syphilitischen neugeborenen Kindern sowie auch bei 9 stark mazerierten Föten Spirochäten nicht nachgewiesen werden konnten.

In Bezug auf Einzelheiten scheinen mir einige Umstände zu verdienen, besonders hervorgehoben zu werden. Zunächst ist der Befund bei lebendgeborenen Kindern bemerkenswert, im Vergleich mit demjenigen bei den totgeborenen Kindern oder Föten, die also kurze oder längere Zeit dem Einfluß der Mazeration in Utero ausgesetzt gewesen sind. Es zeigt sich nämlich, daß man in den einzelnen Organen aus der ersten Gruppe gleich zahlreiche Spirochäten findet als in Organen aus der letzteren. Auch dieser Umstand zeigt, daß die Mazeration nicht, wie von Siegel und Saling behauptet wird, die Hauptbedingung des Spirochätenbefundes sein kann. Daß dagegen die Spirochäten im großen und ganzen weniger zahlreich sind bei lebendgeborenen Kindern, als bei denjenigen, die in Utero gestorben sind, ist ja kein Wunder; denn aller Wahrscheinlichkeit nach sind die Bedingungen für eine Vermehrung der Spirochäten bei einem toten Fötus in Utero sehr günstig, da ja die Verhältnisse einer Kultivierung oder Anreicherung unter aseptischen Kautelen im Brutschrank ähnlich sind. Die Mazeration in Utero ist nämlich eine aseptische Autolyse, die mit Fäulnis gar nichts zu tun hat — ein Umstand, der von einigen Forschern vergessen wird.

Eine gewisse Beziehung zwischen der Menge der Spirochäten und den pathologisch-anatomischen Veränderungen kann nach meiner Er-

fahrung nicht verneint werden. Aber nicht derart, daß sich in einem normalen Organe keine Spirochäten vorfinden würden, sondern so, daß ein entzündlich verändertes Organ immer Spirochäten, und zwar oft in großer Menge, enthält, während in einem anderen Falle, wenn das nämliche Organ keine Veränderungen zeigt, auch die Spirochäten spärlicher vorhanden sind. So z. B. in dem obigen Falle I: Leber (Hepatitis) ++++, Lunge (normal) +; und im Falle III: Leber (normal) +, Lunge (Pneumonie) ++++. Auch bei den totgeborenen Kindern kann man dasselbe Verhältnis beobachten, obwohl hier in der Regel nicht so ausgesprochen, da häufig die Spirochäten überhaupt zahlreich sind (siehe jedoch z. B. Fall IX und XI). Dies alles kann doch nicht nur auf Zufälligkeiten beruhen, da sich in mehreren Fällen der Befund als konstant erweist.

Was die Frequenzskala der verschiedenen Organe betrifft, so steht die Leber voran. Die häufig große Menge von Spirochäten in der Milz will ich auch hervorheben. Auffallend ist ebenfalls die große Anzahl der Spirochäten in der Nebenniere, trotzdem diese keine, wenigstens keine nennenswerten Veränderungen zeigt; aber auch hier ist die wechselnde Menge bei den verschiedenen Fällen und im Vergleich mit dem Spirochätenbefund in den anderen Organen desselben Falles, ein Umstand, der jedenfalls nicht etwas Zufälliges sein kann. Auch der häufige Befund von Spirochäten in dem Knochenmark ist bemerkenswert.

Bezüglich der Ausbreitung der Spirochäten in den einzelnen Organen sind vor allem die herdförmigen Anhäufungen der Spirochäten zu betonen. Dies ist ein häufiger Befund besonders in der Leber, der Lunge, der Milz und der Nebenniere. Dabei will ich ganz besonders an den Befund in der Lunge bei Fall III erinnern, wo die Spirochäten selbst in dem Lumen der kleinen Bronchien herdförmige Kolonieen bildeten. Auch dies alles sind Umstände, die sich schwer mit der Annahme von silberimprägnierten Gewebsfibrillen vereinigen lassen. Dasselbe gilt ebenfalls hinsichtlich der intracellulären Lage der Spirochäten, die bei verschiedenen Parenchymzellen häufig zu beobachten ist. Gierke hat sie neulich auch innerhalb polynukleärer Leukocyten nachgewiesen. Dieselbe Lagerung habe ich in den Alveolen und kleinen Bronchien bei der Lunge im Fall III beobachtet. Den von vielen Autoren erwähnten Befund von Spirochäten im Lumen der Blutgefäße zwischen den roten Blutkörperchen habe ich ebenfalls häufig beobachtet. Uebrigens sind die Wände der kleineren Blutgefäße eine bevorzugte Lagerungsstelle der Spirochäten.

Daß es sich, trotz allem was von den Gegnern hervorgehoben worden ist, hier wirklich um Spirochäten handelt, scheint mir durch viele Beobachtungen festgestellt zu sein. Auch die obigen Untersuchungsresultate können dabei angeführt werden. Es muß aber zugestanden werden, daß man den betreffenden Autoren und besonders Saling ein nicht geringes Verdienst deshalb zuerkennen muß, weil sie viele Täuschungsmöglichkeiten nachgewiesen haben. Aber der Nachweis von Täuschungsmöglichkeiten ist an und für sich kein genügender Grund für die Schlußfolgerung, daß deshalb auch keine der Bildungen, die bei der Silbermethode imprägniert werden, Spirochäten sein können. Was in jener Hinsicht angeführt werden kann, muß auch unter völlig gleichen Bedingungen betrachtet werden wie diejenigen, die für das Geprüfte, hier die Spirochäten, zur Anwendung gekommen sind. Wenn also z. B. Nervenfibrillen angeführt

werden bei einer ganz anderen Vergrößerung, als sie für die Spirochäten angewendet war, so ist dieses kein richtiges Verfahren. Nun glaube ich, daß, wo in jeder Hinsicht die berechtigten Forderungen erfüllt worden sind, etwas den silberimprägnierten Spirochäten im Aussehen Gleichartiges noch nicht gefunden worden ist, weder in der normalen, noch in der pathologischen Histologie des Menschen.

Da behauptet wird — besonders von Saling — daß die Methode Levaditis eine intensive Schrumpfung der verschiedensten Gewebsfibrillen bewirkt, wodurch ein Spirochätenbefund vorgetäuscht wird, habe ich in letzter Zeit versucht, die Alkoholbehandlung zwischen Formalin- und Silberlösung ganz auszuschalten, und zwar sowohl für frisches Material als auch für älteres schon geprüftes. Die kleinen Stücke werden also aus Formalin direkt — nur kurzes Abspülen in Aq. dest. — in eine 3-proz. Silberlösung übertragen. Bei genügend langer Einwirkung der Silberlösung — im Brutschrank bei 37° C 7—8 Tage — habe ich auch dann sehr schön imprägnierte Spirochäten gefunden. Die Behauptung, daß die Spirochäten aus Gewebsfibrillen durch Schrumpfung bei der wechselnden Behandlung der Präparate mit Alkohol und wässerigen Lösungen entstehen, entspricht also nicht der Wirklichkeit. Außerdem können ja die Spirochäten schon in Organausstrichen nachgewiesen werden.

Daß die Spirochäten bei kongenitaler Syphilis im Vergleich mit dem Befunde bei erworbener sehr oft überaus zahlreich vorhanden sind, darf uns nicht wundern, da es sich bei der letzteren um eine einmalige, momentane Infektion handelt, während bei kongenitaler Syphilis, wenigstens bei dem placentaren Infektionsmodus, eine längere Zeit dauernde Uebertragung von Spirochäten wahrscheinlich besteht. Die Gewebe des Fötus empfangen daher von vornherein eine viel größere Menge Einzelindividuen, was selbstverständlich eine günstige Bedingung für die größere Anzahl von Spirochäten bei kongenitaler Syphilis liefern muß.

Es scheint mir also, daß man völlig wissenschaftlichen Grund hat, zu behaupten, erstens, daß die in Geweben syphilitischer Individuen bei Silberimprägnierung erhaltenen spirochätenartigen Bildungen — wenn man von einzelnen Täuschungsmöglichkeiten absieht — nicht Gewebsfibrillen oder Kunstprodukte irgend welcher Art sein können, sondern Mikroorganismen sein müssen; und zweitens, daß viele Umstände dafür sprechen, daß diese Spirochäten in ätiologischer Beziehung zu den syphilitischen Veränderungen stehen.

Weitere Affinitätsstudien an Agglutininen.

[Aus dem hyg. Institut der Universität Graz.]

II. Mitteilung.

Von Dr. **Paul Th. Müller,**

Privatdozenten und Assistenten am hygienischen Institute.

I.

In meiner ersten Mitteilung über meine Affinitätsstudien an Hämolysinen und Agglutininen hatte ich den Nachweis geführt, daß gleichzeitig in demselben Immunserum Antikörper sehr verschiedener Avidität nebeneinander vorhanden sein können, und daß mit zunehmender Dauer der Vorbehandlung mit dem betreffenden Antigen die Avidität der erzeugten Immunprodukte sehr erheblich zunimmt.

Ich hatte damals den Nachweis der Affinitätsunterschiede durch ein eingehendes Studium der Absorptionsverhältnisse bei wiederholtem Antigenzusatz erbringen können, wobei sich nämlich herausstellte, daß bei der ersten Absorption ceteris paribus viel größere Mengen der Antikörper gebunden werden, als bei den folgenden Absorptionen, so daß der erste Absorptionsquotient, das ist das Verhältnis der absorbierten zur dargebotenen Menge der Antikörper, erheblich größer ausfiel, als der zweite und dritte.

Hieraus ergab sich der Schluß, daß die bei dem ersten Absorptionsvorgang gebundenen Immunstoffe avider gewesen sein mußten, als die übrig bleibenden, ein Schluß, der durch eine eingehende Diskussion der Versuchsresultate, wie mir scheint, außerordentlich wahrscheinlich gemacht wurde.

Ich bin nun in der Lage, auf einem anderen, direkteren Wege, der bereits von Landsteiner und Reich mit Erfolg zur Differenzierung von normalen und Immunagglutininen benutzt worden war, die Richtigkeit dieser Anschauung zu bekräftigen und die Existenz von Antikörpern verschiedener Avidität in demselben Immunserum durch noch zwingendere Experimente zu beweisen.

Dieselben fußen auf der schon seit längerer Zeit bekannten und von den verschiedensten Forschern bestätigten Tatsache, daß es gelingt, die Verbindungen von Antigen und Antikörpern durch gewisse chemische und thermische Eingriffe, durch Erhitzen oder durch Einwirkung von Säuren oder Laugen, wenigstens zum Teil in ihre Komponenten zu spalten, und aus denselben die Antikörper wieder in Freiheit zu setzen.

Diese hierbei freiwerdenden Antikörpermengen werden unter sonst gleichbleibenden Bedingungen um so geringer sein, je größer die Avidität ist, mit welcher sie dem Antigen anhaften. Aus dieser Ueberlegung ergab sich die einzuhaltende Versuchsanordnung ganz von selbst:

Die mit Antikörpern beladenen Antigene — ich arbeitete wieder mit Typhusbakterien und ihren spezifischen Agglutininen — mußten, nachdem sie von allen etwa anhaftenden Spuren freien Agglutinins durch wiederholtes Waschen auf der Zentrifuge befreit worden waren, in entsprechenden Mengen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt

werden, dann eine Zeitlang — 15 Minuten — im Wasserbade auf 60° erwärmt, und hierauf, wieder durch energisches Zentrifugieren, von der nunmehr agglutininhaltigen Flüssigkeit getrennt werden. Eine Bestimmung des Agglutiningehaltes dieser Flüssigkeiten, welche also das von den Bakterien unter dem Einfluß der höheren Temperatur abgegebene Agglutinin enthielten, mußte dann lehren, ob in der Tat, wie es unsere oben dargelegte Anschauung erfordern würde, *von den bei der ersten Absorption benutzten Bakterien absolut oder zum mindesten relativ weniger Agglutinin abgespalten wird, als von den Bakterien der zweiten Absorption, die ja mit Antikörpern geringerer Avidität beladen sein mußten, und daher auch größere Mengen derselben in Freiheit setzen mußten.*

Die folgenden Versuchsprotokolle enthalten die Antwort auf die eben aufgeworfene Frage:

Abspaltungsversuch.

Versuch I.

Kaninchen 1. 3 Injektionen von je 3 ccm Typhusaufschwemmung intraperitoneal, in Abständen von je 1 Woche.

Das Serum wird 5-fach verdünnt und so zu den weiteren Prozeduren benutzt.

40 ccm Serumverdünnung + 4 ccm Typhusaufschwemmung, $3^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann abzentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird als C I bezeichnet, der aus Bakterien bestehende Bodensatz als a.

40 ccm C I + 4 ccm Typhusaufschwemmung, wieder $3^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur, dann abzentrifugiert; es resultiert Flüssigkeit C II und Bodensatz b.

a und b bleiben über Nacht bei einer Temperatur von etwa 10° C stehen, nachdem die Flüssigkeiten C abgegossen waren.

Titerbestimmung von dem 5-fach verdünnten Originalserum von C I und C II.

ccm	Original 5-fach 1000-fach verdünnt	C I 1000-fach verdünnt	C II 1000-fach verdünnt
1,0		++	++
0,9		++	0
0,8		++	
0,7	++ (1,0–0,5)		
0,6			
0,5			
0,4	++	0 (0,7–0,20)	0 (0,8–0,20)
0,3	0		
0,25	0		
0,20	0		

Somit in der Serumverdünnung enthalten: $\frac{1000}{0,4} = 2500$ AE.

in 1 ccm C I: $\frac{1000}{0,8} = 1250$ „

in 1 ccm C II: $\frac{1000}{1,0} = 1000$ „

Absorptionsquotienten 1) $\frac{2500-1375}{2500} = 0,45$ bei der ersten Absorption

„ 2) $\frac{1250-1100}{2500} = 0,06$ „ „ zweiten „

Absorbierte Agglutininmenge: 1) 1125 AE. pro Kubikcentimeter

„ „ 2) 150 „ „ „

oder gesamte, von den 4 ccm Typhusaufschwemmung absorbierte Agglutininmenge

1) 45 000 AE. bei der ersten Absorption

2) 6 000 „ „ „ zweiten „

Nun werden a und b so lange mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis dieselbe keine Agglutininreaktion mehr zeigte, in je 8 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und durch 15 Minuten auf 60° erhitzt, abzentrifugiert und die klaren Flüssigkeiten auf ihren Titer geprüft.

ccm	Fl. a 50-fach verdünnt	Fl. b 50-fach verdünnt
1,0		
0,9	++ (0,9–0,8)	++ (0,9–0,3)
0,8		
0,7		
0,6	++	
0,5	0	
0,4		
0,3	0 (0,3–0,20)	
0,25		++
0,20		0

Somit in 1 ccm von Fl. a enthalten: $\frac{50}{0,6} = 83$ AE.

„ 1 „ „ Fl. b „ $\frac{50}{0,25} = 200$ „

Im ganzen somit aus a abgespalten: $8 \times 83 = 664$ AE.

„ b „ $8 \times 200 = 1600$ „

Verhältnis der abgespaltenen zu der absorbierten Agglutininmenge:

1. Absorption: $\frac{664}{45\,000} = 0,014$ **(abgespalten 1,4 Proz. des absorbierten Agglutinins)**

2. „ $\frac{1600}{6000} = 0,26$ („ 26 „ „ „ „)

Versuch II.

Kaninchen 2. Einmalige Injektion von 2 ccm Typhusaufschwemmung, 8 Tage nachher Btutentnahme.

Versuchsanordnung wie oben:

1 ccm Originalserum enthielt: 571 AE.
1 „ C I „ 444 „
1 „ C II „ 363 „

Quotienten:

1. Absorption: $\frac{571-488}{571} = 0,14$

2. „ $\frac{444-399}{444} = 0,10$

Gesamte, von 4 ccm Typhusaufschwemmung absorbierte Agglutininmenge:
1) 3320 A.E. bei der ersten Absorption
2) 1800 „ „ „ zweiten „

Die gewaschenen, agglutininbeladenen Bakterien in je 13 ccm NaCl aufgeschwemmt und wie oben erhitzt etc.

1 ccm Flüssigkeit a = 6,6 AE.
1 „ „ b = 40 „

Somit im ganzen aus a abgespalten: $6,6 \times 13 = 85,8$ AE.
„ „ „ b „ $40 \times 13 = 520$ „

Verhältnis der abgespaltenen zur absorbierten Agglutininmenge:

1. Absorption: $\frac{85,8}{3320} = 0,025$ **(abgespalten 2,5 Proz. des absorbierten Agglutinins)**

2. Absorption: $\frac{520}{1800} = 0,288$ („ 28,8 „ „ „ „)

Versuch III.

Kaninchen 3. Einmalige Injektion von 3 ccm Typhusaufschwemmung. 8 Tage nachher Blutentnahme.

Versuchsanordnung wie oben.

1 ccm Originalserum enthielt: 666 AE.
1 „ C I „ 500 „
1 „ C II „ 400 „

Quotienten:

1. Absorption: $\frac{666-550}{666} = 0{,}17$

2. „ $\frac{500-440}{500} = 0{,}12$

Gesamte absorbierte Agglutininmenge:
1) 2204 AE. bei der ersten Absorption
2) 1140 „ „ „ zweiten „

Gesamte abgespaltene Agglutininmenge:
aus a 96 AE.
„ b 384 „

Verhältnis der abgespaltenen zur absorbierten Agglutininmenge:

1. Absorption: $\frac{96}{2204} = 0{,}043$ **(abgespalten 4,3 Proz. des absorbierten Agglutinins)**

2. „ $\frac{384}{1140} = 0{,}337$ **(„ 33,7 „ „ „ „)**

Uebersichtstabelle.

Versuch No.	Prozent des absorbierten Agglutinins abgespalten	
	1. Absorption	2. Absorption
1	1,4	26,0
2	2,5	28,8
3	4,3	33,7

Wie man sieht, ist das Ergebnis dieser Versuche ein vollkommen eindeutiges. Nicht nur relativ, sondern auch absolut genommen, war stets die von den bei der zweiten Absorption benutzten Bakterien abgespaltene Agglutininmenge bedeutend größer, als die von den Bakterien der ersten Absorption gelieferte, eine Tatsache, die besonders dann noch mehr in die Augen fällt, wenn man, wie dies in der Uebersichtstabelle geschehen ist, dieselbe zu der Menge absorbierten Agglutinins in numerische Beziehung setzt. Es zeigt sich dann, daß von dem bei der ersten Bindung absorbierten Agglutinin nur 1—4 Proz., von dem Agglutinin der zweiten Absorption dagegen fast das 10-fache davon, nämlich 26—34 Proz. durch die Einwirkung der höheren Temperaturen abgespalten wird, was aber nichts anderes bedeutet, als daß diese beiden Faktoren der genannten Antikörper eben mit verschieden großer Kraft an den Bakterienleibern hängen, oder für dieselben eine verschieden starke Affinität besitzen. Wie in unserer ersten Abhandlung, sei auch hier wieder das Wort „Affinität“ ohne Rücksicht darauf gebraucht, ob diese Bindung zwischen Agglutinin und Bakterienrezeptoren als echter chemischer Prozeß aufzufassen ist oder nicht, und soll dasselbe nur als Ausdruck der Tatsache dienen, daß diese beiden Komponenten sich mit gewisser Kraft zu vereinigen suchen und nach der Vereinigung ihrer Trennung einen gewissen Widerstand entgegensetzen, der eben durch die Wirkung der höheren Temperatur zum Teil überwunden wird.

Diese Beobachtungen zeigen aufs neue, wie unberechtigt es ist, die wirksamen Stoffe der Immunsera — ebenso wie die Bakterienprodukte

mit toxischer Wirkung — als einheitliche Substanzen aufzufassen und auf Grund dieser Annahme einer mathematischen Betrachtung ihrer Reaktionsweise zu unterziehen. Konnten wir doch im Verlauf der Immunisierung eine stetige Affinitätssteigerung der produzierten Agglutinine beobachten, derart, daß wohl eine ganze Reihe von Stufenfolgen verschiedener Affinität gleichzeitig nebeneinander in dem Serum eines solchen Tieres vorhanden sein mußte. Diese Aviditätsunterschiede müssen wohl ihren Grund in den — wenn auch vielleicht nur ganz unbedeutenden — Differenzen des Aufbaues oder des physikalischen Zustandes dieser Stoffe haben, der sich offenbar gesetzmäßig im Laufe der immunisatorischen Behandlung verändert.

Es ist diese Tatsache auch in anderer Hinsicht nicht ohne theoretisches Interesse. Wie bereits flüchtig angedeutet, haben Landsteiner und Reich[1]) deutliche Affinitätsunterschiede zwischen Normal- und Immunhämagglutininen konstatieren können, „derart, daß die Immunagglutinine gegenüber den Normalagglutininen festere Verbindungen bilden“, und haben daraus mit Recht auf eine Verschiedenheit dieser Stoffe geschlossen. Damit konnte es also den Anschein haben, als ob ein prinzipieller Unterschied zwischen den wirksamen Stoffen der normalen und der Immunsera aufgedeckt sei, der vielleicht sogar auf einen ganz verschiedenen Entstehungsmodus derselben bezogen werden konnte. Diese Kluft, die sich somit zwischen den normalen und immunisatorischen Serumstoffen aufzutun schien, ist nun durch die Tatsache, daß ähnliche Unterschiede auch zwischen den Immunkörpern eines und desselben Serums selbst bestehen, in vollkommen befriedigender Weise überbrückt. Denn offenbar ist es genau derselbe Vorgang, welcher bei dem bereits vorbehandelten Tiere eine Produktion immer aviderer Immunsubstanzen auslöst, der auch bei dem normalen Tiere die Entstehung der ersten, noch relativ wenig aviden Antikörper hervorruft, so daß man also wohl einen kontinuierlichen Uebergang der normalen in die immunisatorischen Serumstoffe annehmen darf.

Von diesem Gesichtspunkte erscheint also die sonst durchaus nicht unwahrscheinliche Hypothese von Landsteiner und Reich, „daß bei den verschiedenen Arten der künstlichen Immunisierung möglicherweise solche Gewebsarten sich vorwiegend an der Immunkörperproduktion beteiligen, deren Anteil an der Produktion der normalen Serumstoffe nicht oder wenig in Betracht kommt“, zur Erklärung der besprochenen Unterschiede kaum notwendig. Vielmehr scheint mir hierzu die ebenfalls von den genannten beiden Autoren ausgesprochene Anschauung hinreichend, „daß die Tätigkeit der Zellen, welche die normalen Serumstoffe liefern, durch die Immunisierungsreize alteriert werde und so anders beschaffene Produkte liefere“.

II.

Es war nun zu versuchen, ob es nicht gelingt, in den Mechanismus bezw. in die Bedingungen tieferen Einblick zu gewinnen, von denen die beobachtete Aviditätssteigerung abhängig ist, und auf diese Weise vielleicht einen Aufschluß über die Bedeutung dieses merkwürdigen Phänomens zu erhalten.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905.

Man konnte sich hierüber eine Reihe von Vorstellungen bilden, deren Richtigkeit zum Teil im Experiment einer direkten Prüfung unterworfen werden konnte.

Wenn wir die Tatsache zum Ausgangspunkte unserer Erwägungen nehmen, daß im Verlaufe der immunisatorischen Behandlung die Affinitätskurve stark ansteigt, so erscheint es naheliegend, zu vermuten, daß die Affinität der Antikörper, die in einem gegebenen Moment produziert werden, abhängig sein dürfte von der Intensität und der Dauer der vorausgegangenen Antikörperproduktion. Diese Möglichkeit konnte nun wieder in verschiedener Weise realisiert sein.

Wenn wir nämlich bedenken, daß der Ausdruck „Intensität der Antikörperproduktion" nichts anderes bedeutet, als die Menge der in der Zeiteinheit entstehenden Antikörper, mit anderen Worten, nichts anderes bedeutet, als die Geschwindigkeit der Antikörperproduktion in einem bestimmten Zeitpunkte, so ist klar, daß durch die Vereinigung von Intensität und Dauer ein Summationsbegriff gegeben ist, der die Gesamtheit der bis zu dem fraglichen Moment entstandenen Antikörper umfassen würde.

Diese erste Möglichkeit wäre also dahin zu präzisieren, daß die Avidität der in jedem Augenblicke entstehenden Immunprodukte abhängig wäre von der Zahl der bisher überhaupt produzierten Antikörpereinheiten und mit dieser Zahl zunehmen würde.

Diese Möglichkeit ist unschwer durch das Experiment zu kontrollieren, da eine unmittelbare Folge derselben die sein würde, daß die Affinitäten auch nach dem Aussetzen der immunisatorischen Behandlung noch immerfort zunehmen müßten, solange überhaupt noch eine Antikörperproduktion stattfindet, bezw. sich einem Maximum asymptotisch annähern müßten, keinesfalls aber wieder auf niederere Werte herabsinken könnten.

Eine weitere Möglichkeit des Zusammenhanges zwischen Aviditätssteigerung und Immunisierungsdauer ergibt sich uns, wenn wir den Begriff der „Intensität der Antikörperproduktion" einer Analyse unterziehen.

Welche theoretische Vorstellung man auch von dem Wesen und dem Mechanismus der Antikörperproduktion haben mag, jedenfalls wird man dieselbe in gewisse protoplasmatische Zellbestandteile verlegen müssen und wird annehmen dürfen, daß nur diese, nicht aber die ganze Zelle für die Funktion in Betracht kommt. Dies vorausgesetzt, ist nun einleuchtend, daß eine Steigerung der Menge der in der Zeiteinheit gebildeten Antikörper in doppelter Weise zustande kommen könnte: Einmal nämlich in der Weise, daß der betreffende Teil der Zelle den Abstoßungsprozeß in der Zeiteinheit öfter wiederholt, so daß sich also die verschiedenen Generationen der entstehenden Produkte schneller aufeinanderfolgen; oder aber zweitens in der Weise, daß ausgedehntere Gebiete der Zelle zur Produktion der Antikörper herangezogen werden, während gewissermaßen der Rhythmus derselben der gleiche bliebe.

In der Sprache der Ehrlichschen Seitenkettenthorie ausgedrückt, würde dies aber bedeuten, daß im ersten Falle zwar die Zahl der an der Produktion der Antikörper beteiligten Rezeptoren die gleiche geblieben sei, der Abstoßungsvorgang dagegen in der Zeiteinheit öfters erfolge, während im zweiten Falle die vermehrte Produktion nicht von einer Be-

schleunigung des Vorganges selbst herrühren würde, sondern von einer Beteiligung einer größeren Anzahl von Rezeptoren, die im gleichen Tempo wie früher arbeiten würden.

Somit wäre es nicht undenkbar, daß die Avidität zwar nicht direkt mit der Menge der bis zu dem gegebenen Moment produzierten Antikörper zusammenhängen könnte, wohl aber mit der Zahl der vorangegangenen Generationen von Antikörpern, indem man sich ganz gut vorstellen könnte, daß jede neue Generation eine größere Avidität besitzen könnte, als die ihr unmittelbar vorausgehende.

Auch diese Annahme würde, wie die an erster Stelle auseinandergesetzte, als unbedingte Folge nach sich ziehen, daß die Avidität vom Beginn der Immunisierung an nur eine Steigerung — natürlich bis zu einem bestimmten Grenzwert — erfahren würde, wäre dagegen mit einer allmählichen Wiederabnahme derselben nicht vereinbar.

Als dritte Möglichkeit wäre endlich in Betracht zu ziehen, daß zwar die Avidität nicht von der Menge der vorher produzierten Antikörper, auch nicht von der Zahl der vorhergegangenen Generationen abhängig wäre, wohl aber mit der im gegebenen Moment vorhandenen Intensität der Antikörperproduktion steigen und fallen könnte. Es ist leicht einzusehen, daß hier jene in den beiden ersten Fällen aufgestellte Forderung, daß die Aviditäten mit der Zeit nur eine Zunahme, nicht aber eine Abnahme erfahren könnten, nicht berechtigt wäre. Denn da zweifellos die Intensität der Antikörperproduktion nach Erreichung eines Maximums wieder bis auf Null absinkt, vorausgesetzt, daß die immunisatorischen Eingriffe nicht wiederholt werden, so würde auch die Aviditätskurve einen ähnlichen Verlauf nehmen müssen, und nach einem Anstieg sich allmählich wieder der Abscissenachse nähern müssen.

Aus diesen Ueberlegungen geht hervor, daß man also durch die weitere Verfolgung der Aviditäten nach der letzten Bakterieneinspritzung eine Entscheidung zwischen den aufgezählten drei Möglichkeiten treffen kann, allerdings nur in dem Sinne, daß man auf Grund solcher Untersuchungen die eine oder andere dieser Möglichkeiten mit Sicherheit hoffen darf ausschließen zu können, während es natürlich vorderhand noch immer fraglich bleiben wird, ob deshalb die übrig bleibende Eventualität, die mit den Tatsachen in der genannten einen Beziehung übereinstimmt, wirklich auch in anderer Richtung annehmbar erscheint.

III.

Nach diesen theoretischen Auseinandersetzungen wollen wir wieder den Boden des Tatsächlichen betreten.

Wenn man immunisierte Versuchstiere sich selbst überläßt, ohne ihnen weitere Antigenmengen beizubringen, so fahren dieselben bekanntlich fort, Antikörper zu produzieren, derart, daß man selbst noch nach vielen Monaten, ja selbst nach Jahren einen mehr oder weniger beträchtlichen Wirkungsgrad ihres Serums konstatieren kann. Aehnliche Tatsachen sind ja auch am Krankenbette, bei Personen, die vor längerer Zeit Typhus oder Cholera überstanden hatten, beobachtet worden und sind bekanntlich unter Umständen sogar im stande, den diagnostischen Wert der Widalschen Reaktion zu beeinträchtigen.

Wie verhält sich nun die Affinität zu dem Antigen bei diesen, lange Zeit nach dem immunisatorischen Eingriff produzierten, bezw. im Blute vorhandenen Antikörpern?

A priori waren hier ja zwei verschiedene Möglichkeiten denkbar: Entweder konnte nämlich das im Verlaufe der Immunisierung erreichte Aviditätsmaximum auch nach Aussetzen des durch die Antigenzufuhr bedingten Reizes unverändert weiter beibehalten werden, oder aber es konnte allmählich wieder eine Abschwächung der Affinitäten eintreten, welche einen kontinuierlichen Uebergang zu den normalen Verhältnissen vermitteln würde, bei denen nur geringe Mengen wenig avider Produkte geliefert werden.

Folgende Versuche bringen die Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten: Die Experimente wurden an einer Reihe von Kaninchen angestellt, welche im Frühjahr 1907 mit 5–6 Einspritzungen einer Typhusaufschwemmung behandelt worden waren und zum Teil zu jenen Untersuchungen gedient hatten, über die ich in meiner ersten Mitteilung berichtet hatte. Nachdem die Tiere etwa durch ein halbes Jahr hindurch in Ruhe gelassen worden waren, wurden nun wieder, in derselben Weise wie früher, die Absorptionsquotienten für die in ihrem Serum noch reichlich vorhandenen Agglutinine bestimmt. Des Vergleiches halber wurden auch einige Tiere einer einmaligen Bakterieneinspritzung unterzogen und auch einige Kaninchen kurze Zeit nach 5—6maliger Injektion untersucht.

Die diesbezüglichen neu angestellten Experimente sind in den folgenden Protokollen wiedergegeben. Um den Ueberblick über ihre Ergebnisse zu erleichtern, wurden die Resultate (im Vereine mit den in meiner ersten Publikation niedergelegten Zahlen) in 3 Tabellen zusammengefaßt, deren erste die Absorptionsquotienten enthält, die sich nach einmaliger Bakterieneinspritzung ergeben hatten, deren zweite die Quotienten unmittelbar nach 4—6maliger Injektion wiedergibt, während die dritte zeigt, wie sich die Quotienten bei solchen Tieren nach längerer Pause gestalten.

Da, wie wir ja wissen, der Wert der Absorptionsquotienten sehr wesentlich von der zur Absorption dargebotenen Agglutininmenge abhängig ist, so wurden bei der Zusammenstellung der Resultate, wie bereits früher, jene Versuche in einen Stab zusammengefaßt, bei welchen die Zahl der dargebotenen Agglutinineinheiten 101—1000, 1001—10 000 und 10 001—100 000 betrug. Durch diese Art der Zusammenstellung ist die Vergleichbarkeit der verschiedenen gewonnenen Einzelwerte miteinander gewährleistet.

A. Versuche mit einmaliger Bakterieneinspritzung.

1) Kaninchen am 22. Aug. 3 ccm Typhusbouillon intraperitoneal. 30. Aug. entblutet: Intervall 8 Tage.

Absorptionsversuch. 10 ccm Serum (bezw. Serumverdünnung) + 1 ccm Typhusaufschwemmung =

a) 1 ccm Vollserum = 1250 AE.
1 „ C = 1111 „

$$\text{Quotient: } \frac{1250-1222}{1250} = 0{,}02$$

b) 1 ccm Serum 10-fach = 125 AE.
1 „ C = 66 „

$$\text{Quotient: } \frac{125-72}{125} = 0{,}42$$

2) 3 Kaninchen am 14. Okt. 3 ccm Typhusbouillon. 21. Okt. Blutentnahme (Serumgemisch). Intervall: 7 Tage.

1 ccm Vollserum = 250 AE.
1 „ C = 174 „

$$\text{Quotient: } \frac{250-202}{250} = 0.19$$

3) Kaninchen am 22. Aug. 2 ccm Typhusaufschwemmung. 30. Aug. Blutentnahme. Intervall 8 Tage.

1 ccm Vollserum = 57 AE.
1 „ C = 40 „

Quotient: $\frac{57-44}{57} = 0,22$

4) Die 3 Kaninchen vom 14. Okt. (Versuch 3). Blutentnahme 28. Okt. Intervall (vom Moment der Injektion gerechnet) 14 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm Serum = 1000 AE.
1 „ C = 800 „

Quotient: $\frac{1000-880}{1000} = 0,12$

b) Serum, 7-fach verdünnt.
1 ccm Verdünnung = 143 AE.
1 „ C = 75 „

Quotient: $\frac{143-82}{143} = 0,42$

5) Kaninchen am 23. Okt. injiziert. Blutentnahme 29. Okt. Intervall 6 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm = 1000 AE.
1 „ = 575 „

Quotient: $\frac{1000-742}{1000} = 0,26$

6) Kaninchen, am 23. Okt. injiziert. Blutentnahme 29. Okt. Intervall 6 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm = 1500 AE.
1 „ C = 1000 „

Quotient: $\frac{1500-1100}{1500} = 0,26$

b) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm = 150 AE.
1 „ C = 100 „

Quotient: $\frac{150-110}{150} = 0,27$

7) Serum der 3 Kaninchen (6. Nov.). Intervall 22 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm Serum = 1250 AE.
1 „ C = 800 „

Quotient: $\frac{1250-880}{1250} = 0,29$

b) Serum 5-fach.
1 ccm Serum verdünnt = 250 AE.
1 „ C = 125 „

Quotient: $\frac{250-137}{250} = 0,45$

8) 2 Kaninchen am 23. Okt. injiziert. Blutenfnahme 8. Nov. Intervall 6 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm Serum = 6666 AE.
1 „ C = 4000 „

Quotient: $\frac{6666-4400}{6666} = 0,34$

b) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 666 AE.
1 „ C = 370 „

Quotient: $\frac{666-407}{666} = 0,39$

9) Kaninchen am 31. Okt. injiziert. Blutentnahme 12. Nov. Intervall 13 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm Serum = 1000 AE.
1 „ C = 800 „

Quotient: $\frac{1000-880}{1000} = 0,12$

b) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 100 AE.
1 „ C = 66 „

Quotient: $\frac{100-72}{100} = 0,28$

10) Kaninchen, 9. Nov. injiziert. Blutentnahme 14. Nov. Intervall 5 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm Serum = 166 AE.
1 „ C = 100 „

Quotient: $\frac{166-110}{166} = 0,33$

11) Kaninchen, 10. Nov. injiziert. Blutentnahme 18. Nov. Intervall 8 Tage.

a) Vollserum.
1 ccm Serum = 1000 AE.
1 „ C = 666 „

Quotient: $\frac{1000-732}{1000} = 0,27$

b) Sernm 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 50 AE.

Quotient: $\frac{100-55}{100} = 0,45$

12) Kaninchen am 31. Nov. injiziert. Blutentnahme 25. Nov. Intervall 25 Tage.

a) 1 ccm Vollserum = 1000 AE.
1 „ C = 750 „

Quotient: $\frac{1000-825}{1000} = 0{,}18$

13) Kaninchen (wie 13).

1 ccm Vollserum = 2000 AE.
1 „ C = 1500 „

Quotient: $\frac{2000-1650}{2000} = 0{,}18$

14) Kaninchen am 26. Okt. injiziert. Blutentnahme 25. Nov. Intervall 31 Tage.

1 ccm Vollserum = 1250 AE.

1 ccm Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 625

Quotient: $\frac{125-68}{125} = 0{,}45$

B. Neue Absorptionsversuche bei 6mal injizierten Kaninchen.

3 Kaninchen. Vom 20. Aug. bis 4. Okt. Blutentnahme 21. und 23. Okt.

a) 1 ccm Vollserum = 16 000 A.E.; zur Absorption 160-fach verdünntes Serum.
1 „ C = 20 „

Quotient: $\frac{100-22}{100} = 0{,}67$

b) 1 ccm Vollserum = 51 200 AE.

Zur Absorption

1) 80-fach verdünntes Serum.
1 ccm Verdünnung = 460 AE.
1 „ C = 160 „

Quotient: $\frac{640-176}{460} = 0{,}72$

2) 40-fach verdünntes Serum.
1 ccm Verdünnung = 1280 AE.
1 „ C = 320 „

Quotient: $\frac{1280-352}{1280} = 0{,}72$

c) 1 ccm Vollserum = 16 000 AE.

1) 40-fach verdünntes Serum.
1 ccm Verdünnung = 400 AE.
1 „ C = 200 „

Quotient: $\frac{400-220}{400} = 0{,}25$

2) 80-fach verdünntes Serum.
1 ccm Verdünnung = 200 AE.
1 „ C = 100 „

Quotient: $\frac{200-110}{200} = 0{,}45$

3) 160-fach verdünntes Serum.
1 ccm Verdünnung = 100 AE.
1 „ C = 33 „

Quotient: $\frac{100-36}{100} = 0{,}64$

d) Kaninchen 10., 17., 23. Sept., 22. und 24. Okt. injiziert. Blutentnahme 30. Okt.

1 ccm Vollserum = 100 000 AE.

1) Serum 50-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 2000 AE.
1 „ C = 400 „

Quotient: $\frac{2000-440}{2000} = 0{,}78$

2) Serum 100-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 1000 AE.
1 „ C $= \frac{100}{0{,}8} = 125$ AE.

Quotient: $\frac{1000-137}{1000} = 0{,}86$

3) Serum 1000-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 100 AE.
1 „ C = 2,5 „

Quotient: $\frac{100-2{,}7}{100} = 0{,}97$

e) Wie Kaninchen d), Blutentnahme 31. Okt.

1 ccm Vollserum = 66 666 AE.

1) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 6666 AE.
1 „ C = 1250 „

Quotient: $\frac{6666-1375}{6666} = 0{,}79$

2) Serum 50-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 1333 AE.
1 „ C = 100 „

Quotient: $\frac{1333-110}{1333} = 0{,}91$

3) Serum 50-fach verdünnt.
1 ccm Serum verdünnt = 133 AE.
1 „ C = 5 „

Quotient: $\frac{133-5,5}{133} = 0,96$

C. Versuche mit 5—6maliger Bakterieneinspritzung und darauffolgender langer Pause.

Kaninchen 2 erhält am 18. und 27. März, 2., 9., 17. und 26. April je eine Einspritzung von 3 ccm Typhusaufschwemmung. Blutentnahme 15. Okt. 1907.

1 ccm Vollserum = 500 AE.
1 „ C = 333 „

Quotient: $\frac{500-366}{500} = 0,27$

Kaninchen 3, wie oben.

a) 1 ccm Vollserum = 1000 AE.
1 „ C = 800 „

Quotient: $\frac{1000-880}{1000} = 0,12$

b) Serum 5-fach verdünnt.
1 ccm Verdünnung = 200 AE.
1 „ C = 143 „

Quotient: $\frac{200-157}{200} = 0,21$

Kaninchen 3. Blutentnahme 25. Okt.

1 ccm Vollserum = 1666 A.E.

a) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm Verdünnung = 166,6 AE.
1 „ C = 125 „

Quotient: $\frac{166,6-137}{166,6} = 0,18$

b) Vollserum.
1 ccm = 1666 AE.
1 „ C = 1250 „

Quotient: $\frac{1666-1375}{1666} = 0,17$

Kaninchen 5. Am 2., 7., 17., 26. April und 25. Mai injiziert. Blutentnahme 28. Okt. 1907.

1 ccm Vollserum = 333 AE.
1 „ C = 250 „

Quotient: $\frac{333-275}{333} = 0,17$

Kaninchen 3. 6. Nov.

a) 1 ccm Vollserum = 1666 AE.
1 „ C = 1111 „

Quotient: $\frac{1666-1222}{1666} = 0,26$

b) 1 ccm Serum 10-fach verdünnt = 166 AE.
1 „ C = 120 „

Quotient: $\frac{166-132}{166} = 0,20$

Kaninchen 5. 12. Nov.

a) 1 ccm Vollserum = 400 AE
1 „ C = 250 „

Quotient: $\frac{400-275}{400} = 0,31$

Kaninchen 3. 14. Nov.

a) 1 ccm Vollserum = 2000 AE.
1 „ C = 1666 „

Quotient: $\frac{2000-1832}{2000} = 0,08$

b) 1 ccm Serum 10-fach verdünnt = 200 AE.
1 „ C = 125 „

Quotient: $\frac{200-137}{200} = 0,31$

Kaninchen 2. 14. Nov.

1 ccm Vollserum = 400 AE.
1 „ C = 333 „

Quotient: $\frac{400-366}{400} = 0,07$

Kaninchen 3. 21. Nov.

a) 1 ccm Vollserum = 1818 AE.
1 „ C = 1250 „

Quotient: $\frac{1818-1375}{1818} = 0,24$

b) Serum 10-fach.
1 ccm C = 100 AE.

Quotient: $\frac{181-110}{181} = 0,39$

(Schluß folgt.)

Ueber die immunisierende Kraft der normalen Nervensubstanz, verglichen mit der Wutnervensubstanz, der Wut gegenüber.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Sassari.]

Von Prof. **Claudio Fermi.**

(Schluß.)

XI. Immunisierende Wirkung des Serums von Hunden, die mit einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von normaler oder Wutnervensubstanz behandelt wurden.

a) Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert wurden.

Vor allem begann ich mit der Immunisierung von Hunden, wie folgt:

Versuch 1, 10. Dez. 1906. 2 Hunde von 5 und 4,400 kg Gewicht erhalten 25 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen à 2,5 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von frischem Lammhirn. Jedes Tier erhielt 125 ccm. Am 2. Febr. 1907 mit fixem Virus infiziert, bleiben sie am Leben. Am 16. Febr. werden sie durch Verblutung getötet, man bereitet das Serum und schreitet zu folgenden Versuchen:

Versuch 2, 20. Febr. 1907. Eine schwarze Maus wird subkutan mittels Einspritzung von $^1/_4$ ccm Emulsion von fixem Virus infiziert, dann wird 3 Tage lang täglich eine Einspritzung zu $^1/_4$ ccm vom Serum des 25 Tage hindurch mit gesundem Lammhirn immunisierten Hundes verabreicht. Im ganzen erhält das Tier $^3/_4$ ccm Serum.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 3, 20. Febr. 1907. Eine schwarze Maus wird, wie oben infiziert und erhält 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von à $^1/_4$ ccm vom erwähnten Serum. Im ganzen $1^1/_2$ ccm.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 4, 20. Febr. 1907. 2 schwarze Mäuse werden, wie oben infiziert und erhalten dann 5 Tage hindurch 2 Einspritzungen täglich von $^1/_4$ ccm Serum, im ganzen $2^1/_2$ ccm.

Resultat. Beide Tiere bleiben am Leben.

b) Serum von Hunden, die mit Wutnervensubsatnz immunisiert worden waren.

Auch in diesem Falle begann ich mit der Immunisierung von Hunden.

Versuch 1, 6. Dez. 1906. Einem Hunde von 6 kg Gewicht werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 5 ccm verabreicht (im ganzen 150 ccm) einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz. Am 22. Dez., also nach 10 Tagen, wird der Hund durch Verblutung getötet und das Serum bereitet.

Versuch 2, 10. Dez. 1906. Einem Hunde von 5,900 kg werden 25 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von 2,5 ccm, im ganzen 125 ccm, einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz. verabreicht. Am 14. März, d. h. nach 3 Monaten, wird der Hund durch Verblutung getötet und das Serum bereitet.

Versuch 3, 10. Dez. 1906. Einem Hunde von 4,400 kg Gewicht wurden 25 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede zu 2,5 ccm (im ganzen 125 ccm) einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz., verabreicht. Am 14. Febr. wird das Tier sub cute mit fixem Virus infiziert.

Das Tier bleibt am Leben. Nach 20 Tagen wird es durch Verblutung getötet und das Serum bereitet.

Hierauf wurden folgende Versuche angestellt:

Versuch 4, 20. Febr. 1907. 1 schwarze Maus wird mittels Einspritzung sub cute mit $^1/_4$ ccm Emulsion von fixem Virus infiziert, dann erhält sie 3 Tage lang täglich eine Einspritzung von $^1/_4$ ccm Serum von einem mit fixem Virus (2 Einspritzungen täglich von à 2,5 ccm 25 Tage lang (im ganzen 125 ccm) immunisierten Hund, im ganzen erhält sie $^3/_4$ ccm Serum.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 5, 20. Febr. 1907. 1 schwarze Maus wird wie oben infiziert und erhält dann 2 Einspritzungen täglich à $^1/_4$ ccm 3 Tage hindurch, im ganzen $1^1/_2$ ccm vom obigen Serum.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 6, 20. Febr. 1907. 2 schwarze Mäuse wurden wie oben infiziert und erhalten dann 5 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm vom obigen Serum, im ganzen $2^1/_2$ ccm.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Schlußfolgerung. Aus diesen 6 verschiedenen Versuchen zeigt sich, daß das Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanzemulsion immunisiert worden waren, eine ausgeprägte immunisierende Wirkung hat, denn es blieben alle subkutan mit dem starken fixen Virus von Sassari infizierten und dann mit dem obigen Serum im Verhältnis von 0,75:2,5 ccm 3 Tage lang behandelten Mäuse am Leben.

XII. Immunisierende Wirkung des Serums von Hunden, die mit einer Emulsion von normaler und Wutnervensubstanz, gewisse Zeit nach der Infektion mit fixem Virus verabreicht, behandelt wurden.

Zu diesem Zweck stellte ich folgende Versuche an:

Serie I.

a) Serum von einem Hunde, der mit normaler Nervensubstanz behandelt wurde.

Versuch 1, 16. März 1907. 2 mit fixem Virus sub cute infizierte Mäuse erhalten 5 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $^1/_4$ ccm, vom Serum eines mittels gesundem Lammhirns (2 Einspritzungen täglich, jede zu $2^1/_2$ ccm, 25 Tage lang, im ganzen 125 ccm) immunisierten Hundes. Die Behandlung wird 24 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. 1 Maus weist am 25. März 8 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am selben Abend 7 Uhr. Die andere bleibt am Leben.

Versuch 2, 16. März 1907. 2 mit fixem Virus subkutan infizierte weiße Mäuse erhalten 4 Tage lang 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm Hundeserum, wie oben. Im ganzen werden 2 ccm pro Tier verabreicht. Die Behandlung wird 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. 1 Maus bleibt am Leben und die andere weist am 25. März 7 Uhr abends Lähmung auf und verendet am 26. März 8 Uhr vorm.

Versuch 3, 16. März 1907. 2 mit fixem Virus sub cute infizierte weiße Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $^1/_4$ ccm, vom erwähnten Hundeserum, im ganzen jedes Tier $1^1/_2$ ccm. Die Behandlung wird 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. Die beiden Mäuse verenden am 21. März 7 Uhr nachm.

b) Serum von Hunden, die mit Wutnervensubstanz behandelt worden waren.

Versuch 1, 16. März 1907. 2 mit fixem Virus subkutan infizierte weiße Mäuse erhalten 5 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $^1/_4$ ccm Serum, von einem (mittels 25 Einspritzungen von je 5 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von fixem Virus) immunisierten Hunde. Im ganzen erhält jedes Tier $2^1/_4$ ccm. Diese Behandlung wird 24 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. Eine Maus weist am 25. März Lähmung auf, und zwar 4 Uhr nachm. und verendet am 26. März 8 Uhr vorm., die andere bleibt am Leben.

Versuch 2, 16. März 1907. 2 mit fixem Virus sub cute infizierte weiße Mäuse erhalten 4 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm Hundeserum, wie oben, Gesamtmenge pro Tier 2 ccm. Die Behandlung wird 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. 1 Maus weist am 25. März 4 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 26. März 8 Uhr vorm., die andere bleibt am Leben.

Versuch 3, 16. März 1907. 2 mit fixem Virus sub cute infizierte weiße Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $^1/_4$ ccm, vom oben erwähnten Hundeserum, indem im ganzen pro Tier $1^1/_2$ ccm eingespritzt werden. Diese Behandlung wird 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. Die Tiere weisen am 21. März 9 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am selben Tage um 7 Uhr abends.

Kontrollversuch am 16. März. 2 subkutan mit fixem Virus infizierte weiße Mäuse weisen am 21. März vormittags Lähmung auf und verenden am selben Tage 6 Uhr abends.

c) Serum von Hunden, die mit Wutnervensubstanz immunisiert worden waren.

Versuch 1, 12. Mai 1907. Einer mit fixem Virus sub cute infizierten weißen Ratte werden 48 Stunden nach der Infektion 2 Einspritzungen von Serum mit Hirnemulsion von einem wutkranken Kaninchen zu 5 Proz. (2 Einspritzungen jede von $2^1/_2$ ccm täglich 25 Tage hindurch, im ganzen 125 ccm) verabreicht.

Resultat. Das Tier weist am 20. Mai abends 7 Uhr Lähmung auf und wird dann wieder gesund.

Versuch 2, 12. Mai 1907. Man infiziert eine weiße Ratte sub cute mit Emulsion von fixem Virus und 72 Stunden später erhält sie 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von 1 ccm Serum mit Emulsion von Wuthirn eines Kaninchens zu 5 Proz. (2 Einspritzungen jede von $2^1/_2$ ccm täglich, 25 Tage hindurch, im ganzen 125 ccm).

Resultat. Das Tier weist am 18. Mai vorm. 7 Uhr Lähmung auf und verendet am 19. Mai 12 Uhr mittags.

Versuch am 30. Mai 1907. 2 Mäuse werden subkutan mit fixem Virus infiziert, 24 Stunden später erhalten sie 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm, im ganzen $1^1/_2$ ccm, Serum eines mit Emulsion von wutkrankem Kaninchenhirn zu 5 Proz. immunisierten Hundes (2 Einspritzungen täglich von je $2^1/_2$ ccm 25 Tage hindurch, im ganzen 125 ccm).

Resultat. Eine Maus weist am 7. Juni 4 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 8. Juni 7 Uhr vorm.; die andere bleibt am Leben.

Kontrollversuch. Eine weiße Ratte wird mit fixem Virus subkutan infiziert.

Resultat. Das Tier weist am 17. Mai 4 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 18. Mai 7 Uhr vorm.

II. Serie von Versuchen.

a) Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert wurden.

Versuch am 21. Mai 1907. Eine weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Maus erhält 2 Tage lang 3 Einspritzungen täglich von je $1^1/_2$ ccm Serum von einem Hunde, der mit Hirnemulsion eines gesunden Ochsen zu 5 Proz. (wie oben) immunisiert worden war. Die Behandlung beginnt 84 Stunden nach der Infektion.

Resultat. Das Tier weist am 29. Mai 8 Uhr abends Lähmung auf und stirbt am 31. Mai 5 Uhr nachm.

Versuch am 21. Mai 1907. Einer weißen, mit fixem Virus subkutan infizierten Maus werden 2 Tage hindurch täglich 3 Einspritzungen von je $1^1/_2$ ccm Serum von einem mit Einspritzungen von gesundem Ochsenhirn zu 5 Proz. (wie oben) immunisierten Hunde verabreicht. Die Behandlung wird 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. Das Tier weist am 27. Mai 8 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 31. Mai 9 Uhr abends.

b) Serum von Kaninchen, die mit Wutnervensubstanz immunisiert worden waren.

Versuch 1, 21. Mai 1907. Eine weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Maus erhält 2 Tage hindurch 3 Einspritzungen von je $1^1/_2$ ccm Serum von Hirnemulsion eines wutkranken Kaninchens (fixem Virus) zu 5 Proz., welches wie oben immunisiert worden war. Die Behandlung wird 84 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. Am 3. Juni 7 Uhr vorm. weist das Tier Lähmung auf und stirbt am 5. Juni 7 Uhr nachm.

Versuch 2, 21. Mai 1907. Eine weiße Maus, subkutan mit fixem Virus infiziert, erhält 2 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je $1^1/_2$ ccm Serum eines mit einer Emulsion von wutkrankem Kaninchenhirn (fixem Virus) immunisierten Kaninchens zu 5 Proz. wie oben. Die Behandlung beginnt 72 Stunden nach der Infektion.

Resultat. Das Tier weist am 26. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 26. Mai um Mitternacht.

Kontrollversuch. 2 weiße Mäuse werden subkutan mit fixem Virus infiziert.

Resultat. Eine weist am 26. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 29. Mai 8 Uhr nachm.; die andere weist ebenfalls am 26. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 28. Mai 9 Uhr vorm.

III. Versuchsreihe.

a) Serum von Hunden, immunisiert mit normaler Nervensubstanz.

Versuch 1, 12. Mai 1907. Einer weißen, subkutan mit fixem Virus infizierten Ratte werden 48 Stunden nach der Infektion 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Serum eines 25 Tage hindurch mit 2 Einspritzungen täglich à $2^1/_2$ ccm einer Hirnemulsion von gesundem Ochsen immunisierten Hundes verabreicht.

Resultat. Das Tier ist am 23. Mai 9 Uhr abends gelähmt und stirbt am 25. Mai 7 Uhr vorm.

Versuch 2, 12. Mai 1907. Eine weiße, subkutan mit einer Emulsion fixen Virus infizierte Ratte erhält nach 24 Stunden 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Serum eines mittels einer Hirnemulsion eines gesunden Ochsen zu 5 Prom., 2 Einspritzungen ($2^1/_2$ ccm) täglich 25 Tage hindurch (125 ccm), immunisierten Hundes.

Resultat. Das Tier weist am 20. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 20. Mai $8^1/_2$ Uhr abends.

Versuch 3, 30. Mai 1907. 2 schwarze, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten nach 24 Stunden 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm, im ganzen $1^1/_2$ ccm Serum, eines mit Hirnemulsion eines gesunden Ochsen zu 5 Prom., 2 Einspritzungen ($2^1/_2$ ccm) täglich 25 Tage hindurch, im ganzen 125 ccm, immunisierten Hundes.

Resultat. Ein Tier weist am 3. Juni 10 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 5. Juni 7 Uhr vorm.; das andere bleibt am Leben.

Schlußfolgerung. Aus diesen 3 Versuchsserien geht hervor, daß sowohl das von einem mit normaler Nervensubstanz immunisierten Hunde stammende Serum als das von einem mit Wutnervensubstanz immunisierten (2 Einspritzungen täglich à $2^1/_2$ ccm 25 Tage lang) sich ähnlich verhalten. In der Tat rettete man von sämtlichen Muriden, die mit fixem Virus subkutan infiziert und mit obigen Sera (3—5 Tage lang 2mal täglich jedesmal $^1/_4$ ccm) behandelt wurden, kein einziges, wenn die Behandlung 72—84 Stunden nach der Infektion begonnen wurde; man rettete hingegen 1 : 3 von jenen, bei denen die Behandlung nach 48 Stunden vorgenommen wurde. Außerdem muß ich hervorheben, daß eine der Ratten, die mit Serum eines mit Wutserum immunisierten Hundes behandelt worden waren, gelähmt wurde, aber dann wieder genas. Von den Mäusen, bei denen die Behandlung 24 Stunden nach der Infektion begann, rettete man die Hälfte (2 : 4) sowohl von den mit einem Serum als von den mit dem anderen behandelten.

XIII. Immunisierende Wirkung des Hunde- und Kaninchenserums nach Behandlung dieser Tiere mit normaler oder mit Wutnervensubstanz verschiedene Zeit nach der stattgefundenen Infektion mit Straßenvirus.

I. Serie mit Hundeserum.

Versuche auf Mäuse.

a) Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz vom Lamm behandelt wurden.

Versuch am 27. Febr. 1907. 4 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm Serum von einem mit einer Emulsion von gesundem Lamm und gleichen Teilen Vaccin immunisierten Hunde. Die Behandlung wird begonnen bei der ersten Maus am 4. Tage, bei der zweiten am 6., bei der dritten am 8. und bei der vierten am 10. Tage nach der Infektion. Im ganzen wurden $1^1/_2$ ccm eingespritzt.

Resultat. Die drei nach 3, 6, 8 Tagen nach der Infektion behandelten Mäuse bleiben am Leben; die hingegen, bei der die Behandlung am 10. Tage nach der Infektion begann, weist am 18. März Lähmung auf und verendet am 19. März = nach 20 Tagen.

b) Serum von Hunden, die mit Wutnervensubstanz von Kaninchen behandelt worden waren.

Versuch am 27. Febr. 1907. 4 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm von demselben Hundeserum (mit Emulsion von fixem Virus immunisiert) vermischt mit gleichen Teilen von Vaccin. Die Behandlung wird begonnen bei der ersten Maus 4 Tage nach der Infektion, bei der zweiten 6 Tage, bei der dritten 8 Tage und bei der vierten 10 Tage nach der Infektion. Im ganzen erhält jedes Tier $1^1/_4$ ccm.

Resultat. Die drei am 3., 6., 8. Tage nach der Infektion mit Straßenvirus injizierten Tiere bleiben am Leben, die nach dem 10. Tage behandelte hingegen stirbt.

Kontrollversuch am 27. Febr. 1907. 2 weiße Mäuse werden mit Straßenvirus subkutan infiziert.

Resultat. Die Tiere weisen am 18. März Lähmung auf und verenden am 19. März, also nach 20 Tagen.

Versuche auf Ratten.

b) Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz von Ochsen behandelt worden waren.

Versuch am 12. Mai 1907, 8 Uhr abends. Eine weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Serum eines mit Hirnemulsion eines gesunden Ochsen zu 5 Proz. (2 Einspritzungen von je $2^1/_2$ ccm täglich 25 Tage hindurch, total 125 ccm) immunisierten Hundes. Die Behandlung wird 4 Tage nach der Infektion begonnen, d. h. am 16. Mai.

Resultat. Das Tier weist am 9. Juni 11 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 10. Juni, d. h. nach 33 Tagen, 8 Uhr nachm. mit einer Verspätung von 11 Tagen den Kontrolltieren gegenüber.

Versuch am 12. Mai 1907, 8 Uhr abends. Einer mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratte werden 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Serum eines mit Hirnemulsion eines gesunden Ochsen immunisierten Hundes verabreicht. Die Behandlung wird 6 Tage nach der Infektion, am 18. Mai, begonnen.

Resultat. Das Tier stirbt nach 6 Tagen aus unbekannten Ursachen.

Versuch am 12. Mai 1907, 8 Uhr abends. Eine mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Serum eines mit einer Hirnemulsion eines gesunden Ochsen immunisierten Hundes. Die Behandlung beginnt 8 Tage nach der Infektion, d. h. am 20. Mai.

Resultat. Das Tier verendet aus unbekannten Gründen nach 12 Tagen.

c) Serum von Hunden, die mit Wutnervensubstanz von Kaninchen behandelt worden waren.

Versuch am 12. Mai 1907, 8 Uhr abends. Einer weißen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratte werden 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Serum eines mit Wuthirn eines Kaninchens zu 1 Prom. (fixem Virus), 2 Einspritzungen täglich 25 Tage hindurch, total 125 ccm, immunisierten Hundes verabreicht. Die Behandlung beginnt am 4. Tage nach der Infektion, d. h. 26. Mai.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben, es lebt noch am 8. Juni.

Versuch am 12. Mai 1907, 8 Uhr abends. Eine subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Serum eines mit Hirnemulsion eines wutkranken Kaninchens immunisierten Hundes. Die Behandlung beginnt 8 Tage nach der Infektion, d. h. am 20. Mai.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Kontrollversuch. Eine weiße Ratte wird mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Das Tier weist am 28. Mai 1 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 29. Mai 9 Uhr abends.

Schlußfolgerung. Aus der ersten Serie dieser mit Mäusen angestellten Versuche geht hervor, daß kein Unterschied zwischen den beiden Hundesera besteht. Beide waren in der Tat fähig, die Tiere zu retten, auch wenn die Behandlung mit Serum 4—6—8 Tage nach der Infektion mit Straßenvirus erfolgte. Nicht so deutlich war das Resultat der mit Ratten angestellten Versuche. Denn während die 3 mit Serum von einer mit Emulsion von Wutnervensubstanz behandelten Ratte gerettet wurden, konnte man von den mit Serum von normaler Nervensubstanz behandelten nur eine einzige verwerten, die aber, wenn auch

mit einer Verspätung von 28 Tagen, an der Wut starb. (Die beiden anderen starben aus unbekannten Gründen nach 6—12 Tagen.)

II. Serie mit Kaninchenserum.

a) Serum von Kaninchen, immunisiert mit frischer normaler Nervensubstanz.

Versuch am 12. Mai 1907. Ein Kaninchen von 1,900 kg erhält 20 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von frischem Hirn eines gesunden Kaninchens. Totalmenge 80 ccm.

Am 20. Juni wird es subkutan mit fixem Virus infiziert.

Resultat. Am 28. Juni weist das Tier Lähmung auf und wird dann am selben Tage verblutet. Gewicht des Tieres 1,750 kg, Verlust 150 g.

Mit dem bereiteten Serum werden folgende Versuche angestellt:

Versuch 1, 10. Juli 1907. 3 mit Straßenvirus subkutan infizierte weiße Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm vom Blutserum eines mittels frischer Hirnemulsion eines Kaninchens immunisierten Kaninchens, Totalmenge $1^1/_2$ ccm. Die Behandlung beginnt nach 6 Tagen (16. Juli).

Resultat. Eine Maus weist am 25. Juli 7 Uhr vorm. Paralyse auf und stirbt am selben Tage 9 Uhr vorm. Die beiden anderen bleiben am Leben.

Versuch 2, 10. Juli 1907. 3 mit Straßenvirus infizierte weiße Mäuse werden wie oben immunisiert. Die Behandlung beginnt 8 Tage nach der Infektion (18. Juli).

Resultat. Eine Maus weist am 25. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am selben Tage 9 Uhr vorm. Die beiden anderen bleiben am Leben.

b) Serum von Kaninchen, immunisiert mit frischer Wutnervensubstanz.

Versuch am 12. Mai 1907. Einem Kaninchen von 2,100 kg werden 20 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm mit Karbolsäure versetzter Emulsion von frischem Hirn eines wutkranken Kaninchens verabreicht, im ganzen 80 ccm.

Am 20. Juni wird es unter der Cornea mit fixem Virus infiziert.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben. Am 4. Juli wog es 1,750 kg (also Verlust 350 g).

Das Tier wird dann durch Verblutung getötet und man bereitet das Serum, mit welchem folgende Versuche angestellt werden:

Versuch 1, 10. Juli 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm Blutserum eines mittels einer Emulsion von frischem Hirn eines Wutkaninchens immunisierten Kaninchens. Im ganzen erhält das Tier $1^1/_2$ ccm. Diese Behandlung wird nach 6 Tagen (16. Juli) begonnen.

Resultat. Eine Maus weist am 24. Juli 4 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 25. Juli 7 Uhr vorm.; eine andere weist am 12. Aug. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am selben Abend um 8 Uhr. Die andere bleibt am Leben.

Versuch 2, 10. Juli 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse werden wie oben immunisiert. Die Behandlung beginnt nach 8 Tagen (18. Juli).

Resultat. Eine Maus weist am 24. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 24. Juli 4 Uhr nachm.; eine andere weist am 12. Aug. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am selben Abend um 8 Uhr. Die andere bleibt am Leben.

c) Serum von Kaninchen, immunisiert mit getrockneter normaler Nervensubstanz.

Versuch. Ein Kaninchen, 2,200 kg, erhält 20 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer mit Karbolsäure versetzten trockenen Hirnemulsion (3 Tage unter Aetznatron) eines gesunden Hundes (Totalmenge 80 ccm).

Am 20. Juni wird es unter die Hornhaut mit fixem Virus infiziert.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben. Am 4. Juli wog es 2,100 kg (—100 g). Es wird mittels Verblutung getötet, das Serum wird bereitet und mit diesem werden folgende Versuche angestellt:

Versuch 1, 10. Juli 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von $^1/_4$ ccm Blutserum eines mit einer trockenen Hirnemulsion von einem Hunde immunisierten Hundes. Im ganzen werden $1^1/_2$ ccm eingespritzt. Man beginnt die Behandlung nach 6 Tagen (16. Juli).

Resultat. Die Tiere weisen am 24. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am selben Tage 9 Uhr vorm.

Versuch 2, 10. Juli 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse werden wie oben immunisiert. Die Behandlung beginnt nach 8 Tagen (18. Juli).

Resultat. Die Tiere weisen am 24. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf; 2 sterben am 24. Juli 9 Uhr vorm., das andere am 25. Juli 7 Uhr nachm.

d) Serum von Kaninchen, die mit getrockneter Wutnervensubstanz immunisiert worden waren.

Versuch. Ein Kaninchen (1,700 kg) erhält 20 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer mit Karbolsäure versetzten trockenen Hirnemulsion (3 Tage unter Aetznatron bei 30°) von einem Wutkaninchen. Im ganzen eingespritzte Menge 80 ccm.
Am 20. Juni wird das Tier unter die Hornhaut mit fixem Virus infiziert.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben. Am 4. Juli hatte es nichts von seinem Gewicht verloren. Es wird durch Verblutung getötet. Man schreitet zur Bereitung des Serums, mit welchem folgende Versuche angestellt werden:

Versuch 1, 10. Juli 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm eines Blutserums von einem mit trockener Hirnemulsion eines Wutkaninchens immunisierten Kaninchen. Im ganzen erhält jedes Tier $1^1/_2$ ccm. Die Behandlung wird am 16. Juni, also nach 6 Tagen, begonnen.

Resultat. Eine Maus weist am 25. Juli 9 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 26. Juli 7 Uhr nachm. Die beiden anderen bleiben am Leben.

Versuch 2, 10. Juli 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse werden wie oben immunisiert. Die Behandlung beginnt nach 8 Tagen (18. Juli).

Resultat. Am 24. Juli 7 Uhr abends weisen die Tiere Lähmung auf und sterben alle am 25. Juli 7 Uhr vorm. an der Wut.

Kontrollversuch am 10. Juli 1907. 2 weiße Mäuse werden mit Straßenvirus infiziert (subkutan).

Resultat. Am 24. Juli 7 Uhr vorm. weisen sie Lähmung auf; eine stirbt am 25. Juli 7 Uhr vorm., die andere am 25. Juli 9 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: Diese Versuche zeigen:

1) Daß das Serum von Kaninchen, die mit frischer Nervensubstanz oder normaler Wutnervensubstanz immunisiert worden waren, 66 Proz. der zuvor mit Straßenvirus infizierten Mäuse rettete.

2) Daß das Serum von Kaninchen, die mit getrockneter normaler Nervensubstanz immunisiert worden waren, kein einziges Tier rettete, während das Serum von Kaninchen, die mit Wutnervensubstanz, selbst mit getrockneter, behandelt worden waren, 33 Proz. der Mäuse rettete.

XIV. Immunisierende Kraft des Blutserums von gesunden Tieren.

Als Vergleichungsversuch mit den mit Serum immunisierter Tiere angestellten hielt ich es für angebracht, auch die Kraft des Blutserums gesunder Tiere zu versuchen.

Versuch 1, 22. April 1907. 3 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 5 Tage lang 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm Serum eines gesunden Hundes. Im ganzen werden $2^1/_2$ ccm eingespritzt.

Resultat. Eine Maus stirbt am 30. April 8 Uhr vorm., wahrscheinlich an der Wut, eine andere weist am 3. Mai 8 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am selben Tage 3 Uhr nachm., eine dritte weist am 3. Mai 9 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 4. Mai 8 Uhr vorm.

Versuch 2, 3. Mai 1907. 3 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm Serum eines gesunden Hundes. Im ganzen erhält jedes Tier $1^1/_2$ ccm.

Resultat. 2 Mäuse weisen am 7. Mai 9 Uhr abends Lähmung auf und sterben am 8. Mai 7 Uhr vorm.; die dritte bleibt am Leben.

Versuch 3, 3. Mai 1907. 3 schwarze, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 4 Tage lang 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm Serum eines gesunden Hundes. Im ganzen erhält jedes Tier 2 ccm.

Resultat. Eine Maus weist am 8. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 10. Mai 9 Uhr abends, d. i. nach 7 Tagen; eine andere weist am 13. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am selben Tage 8 Uhr abends, d. i. nach 10 Tagen, mit einer Verspätung den Kontrolltieren gegenüber von 4 Tagen. Die dritte bleibt am Leben. Die beiden toten Tiere haben eine Verspätung von 2—5 Tagen gegenüber den Kontrolltieren aufgewiesen.

Kontrollversuch am 3. Mai 1907. 2 weiße Mäuse werden subkutan infiziert.
Resultat. Die Tiere weisen am 7. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 8. Mai 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung. Das Serum von gesunden Hunden besitzt zum Unterschied von dem immunisierter Hunde fast keine immunisierende Wirkung der subkutanen Infektion mit frischem Virus gegenüber.

In der Tat starben von 9, mit fixem Virus infizierten und mit 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm 4—5 Tage lang behandelten Mäusen 7 an der Wut.

XV. Immunisierende Wirkung des Serums von Tieren, die mit normaler oder Wutnervensubstanz, welche dem Vaccin beigemischt war, immunisiert wurden.

Ich hielt es für angebracht, der Frage über die immunisierende Wirkung des Vaccin-Serums einige Versuche zu widmen.

I. Serie.

a) Blutserum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz behandelt worden waren.

Versuch 1, 20. Februar 1907. Eine weiße Maus wird wie oben infiziert and erhält dann 3 Tage lang täglich eine Einspritzung von je $^1/_4$ ccm eines Gemisches von Serum und Vaccin (10 Proz.) zu gleichen Teilen; im ganzen $^3/_4$ ccm.
Resultat. Das Tier bleibt am Leben.
Versuch 2, 20. Februar 1907. Eine weiße Maus wird wie oben infiziert und erhält dann 3 Tage hindurch 2 Einspritzungen, täglich von je $^1/_4$ ccm von obiger Mischung Serumvaccin; im ganzen $1^1/_2$ ccm.
Resultat. Das Tier bleibt am Leben.
Versuch 3, 20. Februar 1907. 2 schwarze Mäuse werden wie oben infiziert und erhalten dann 5 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm obiger Mischung Serum-Vaccin; im ganzen $2^1/_2$ ccm.
Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

b) Blutserum eines mit Wutnervensubstanz behandelten Hundes.

Versuch 4, 16. März 1907. 6 weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Mischung vom Serum eines Hundes (immunisiert mit Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz., durch Einspritzungen von 5 ccm 25 Tage hindurch) und Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz. zu gleichen Teilen, nachdem diese Mischung 15 Stunden bei einer Temperatur von 11° geblieben war. Im ganzen erhält jedes Tier $1^1/_2$ ccm.
Resultat. Alle Tiere bleiben am Leben.
Kontrollversuch, 16. März 1907. 2 weiße Mäuse werden subkutan mit je $^1/_4$ ccm Emulsion von fixem Virus infiziert.
Resultat. Die Tiere weisen am 21. März Lähmung auf und starben am 22. d. M. nach 6 Tagen.

Schlußfolgerung. Diese Versuche beweisen, daß die Wirkung des Serums eines mit normaler Nervensubstanz immunisierten Hundes jener des Serums eines mit fixem Virus immunisierten gleich ist. In der Tat war das Hundeserum (immunisiert mittelst einer täglichen Einspritzung von je 5 ccm 25 Tage hindurch mit Emulsion von fixem Virus mit Karbolsäure versetzt) zu gleichen Teilen mit frischem Virus 10 Proz. und im Verhältnis von $1^1/_2$ ccm, in 3 Tagen eingespritzt, fähig, die vorher mit fixem Virus infizierten Mäuse zu retten.

II. Serie.

a) Blutserum von einem mit normaler Nervensubstanz behandelten Hunde.

Versuch 1, 16. März 1907. 2 weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 5 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Mischung

von Serum und Vaccin (10 Proz.) zu gleichen Teilen. Im ganzen erhält jedes Tier $2^1/_2$ ccm. Die Behandlung beginnt 24 Stunden nach der Infektion.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2, 16. März 1907. 2 mit fixem Virus subkutan infizierte, weiße Mäuse erhalten 4 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm obiger Mischung, im ganzen 2 ccm pro Tier. Die Behandlung beginnt 48 Stunden nach der Infektion.

Resultat. Eine Maus bleibt am Leben, die andere weist am 25. März Lähmung auf und stirbt am 26.

Versuch 3, 16. März 1907. 2 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm obiger Mischung; im ganzen $1^1/_2$ ccm pro Tier. Die Behandlung beginnt 72 Stunden nach erfolgter Infektion.

Resultat. Die 2 Tiere weisen am 22. März Lähmung auf und sterben am selben Tage.

b) Serum von mit Wutnervensubstanz behandeltem Hunde.

Versuch 1, 16. März 1907. 2 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 5 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Mischung Serum und Vaccin (10 Proz.) zu gleichen Teilen; im ganzen erhält jedes Tier $2^1/_2$ ccm. Die Behandlung wird 24 Stunden nach erfolgter Infektion begonnen.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2, 16. März 1907. 2 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 4 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm obiger Mischung; im ganzen 2 ccm pro Tier. Die Behandlung wird 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat. Eine weist am 25. März 8 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 26. März 10 Uhr vorm., die andere bleibt am Leben.

Versuch 3, 16. März 1907. 2 weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm obiger Mischung; im ganzen $1^1/_2$ ccm pro Tier.

Resultat. Am 21. März 8 Uhr vorm. weisen beide Lähmung auf und starben am selben Tage 7 Uhr abends.

Kontrollversuch 16. März 1907. 2 mit fixem Virus infizierte Mäuse sterben an der Wut am 22. März.

Schlußfolgerung. Aus diesen Versuchen geht hervor:

1) Daß die Mischung zu gleichen Teilen von Hundeserum (immunisiert mit 22 Einspritzungen von je 5 ccm von mit Karbolsäure versetzten normalen und Wutnervensubstanz 10 Proz.) und mit Karbolsäure versetzter Emulsion von fixem Virus, 2mal täglich 5 Tage lang, $^1/_4$ ccm pro Einspritzung, die Tiere rettete, auch wenn die Behandlung 24 Stunden nach der Infektion begann.

2) Daß beim Beginn der Behandlung 48 Stunden nach erfolgter Infektion, d. h. ungefähr 3 Tage vor Auftreten der ersten Symptome, nur 1 von 2 Tieren gerettet wurde.

3) Daß die Behandlung hingegen vollständig ohne Wirkung blieb, wenn die Behandlung 3 Tage nach erfolgter Infektion, d. h. 2 Tage vor dem Auftreten der Symptome vorgenommen wurde.

4) Daß sich somit die normale Nervensubstanz gerade wie die Wutnervensubstanz verhalten hat.

III. Serie.

a) Blutserum von einem mit normaler Nervensubstanz immunisierten Kaninchen.

Vor allem begann ich mit Kaninchen.

Versuch 1, 2. Februar 1907. Ein Kaninchen (2,400 kg) erhält subkutan 1 Einspritzung von 2 ccm täglich 20 Tage hindurch; im ganzen 40 ccm einer Hirnemulsion vom gesundem Lamme 5 Proz. mit $^1/_2$ Proz. Karbolsäure. Am 14. März, d. h. 20 Tage nach der letzten Einspritzung, wird das ganze Blut dem Tiere entzogen und das Serum bereitet, welches mit einem Zusatz von $^1/_2$ Proz. Karbolsäure aufbewahrt wird.



Versuch 2, 2. Februar 1907. Ein anderes Kaninchen (2,200 kg) wird wie oben immunisiert und nach 20 Tagen getötet (durch Verblutung) und man schreitet zur Bereitung des Serums.

Hierauf versuchte ich das Gemisch von fixem Virus und Serum von mit normaler Nervensubstanz immunisierten Kaninchen.

Versuch 3, 27. Februar 1907. Eine weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Maus erhält 48 Stunden nach erfolgter Infektion 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen von Kaninchenserum, immunisiert mit 32 ccm mit Karbolsäure versetzter Hirnemulsion eines gesunden Lammes 5 Proz. und mit Karbolsäure versetztem Vaccin.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 4, 27. Februar 1907. Eine weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Maus erhält 72 Stunden nach der Infektion 3 Tage hindurch täglich eine Einspritzung von $^1/_4$ ccm obiger Mischung von Kaninchenserum und mit Karbolsäure versetztem Vaccin.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

b) Blutserum von mit Wutnervensubstanz immunisiertem Kaninchen.

Versuch 1, 2. Februar 1907. Ein Kaninchen (2,400 kg) erhält 20 Tage hindurch täglich eine Einspritzung von je 2 ccm, im ganzen 40 ccm einer $^1/_2$ Proz. Karbolsäure enthaltenden Emulsion von fixem Virus zu 5 Proz. Am 14. März, d. i. 20 Tage nach der letzten Einspritzung, wird dem Kaninchen das Blut entzogen und das Serum bereitet, welches unter einem Zusatze von $^1/_2$ Proz. Karbolsäure aufbewahrt wird.

Versuch 2, 2. Februar 1907. Ein anderes Kaninchen wird wie oben immunisiert und nach 20 Tagen durch Verblutung getötet; man bereitet das Serum.

Hierauf versuchte ich die Mischung von fixem Virus und das Serum von einem mit Wutnervensubstanz immunisierten Kaninchen.

Versuch 3, 27. Februar 1907. Eine weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Maus erhält 48 Stunden nach der Infektion 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $^1/_4$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen von Serum eines mit einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von fixem Virus 5 Proz.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 4, 27. Februar 1907. Eine weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Maus erhält 72 Stunden nach der Infektion 3 Tage lang täglich 1 Einspritzung von je $^1/_4$ ccm obiger Mischung von Kaninchenserum und mit Karbolsäure versetztem Vaccin.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Kontrollversuch. 2 weiße Mäuse wurden subkutan mit fixem Virus infiziert.

Resultat. Sie weisen am 4. März vorm. 9 Uhr Lähmung auf und sterben am selben Tage mittags.

Schlußfolgerung. Diese Versuche beweisen, daß das Serum von mit 32 ccm mit Karbolsäure versetzter Emulsion von normaler oder Wutnervensubstanz, vermischt zu gleichen Teilen mit Emulsion von fixem mit Karbolsäure versetzten Virus 10 Proz., die vorher mit fixem Virus infizierten Tiere rettete, wenn ihnen 3 Tage lang täglich 1 Einspritzung von $^1/_4$ ccm nach Verlauf von 72 Stunden nach der Infektion verabreicht wurde. Auch in diesem Falle hatte das Serum von Tieren, die mit normaler Nervensubstanz behandelt wurden, bewiesen, daß seine Wirkung jener des Serums der Tiere, die mit Wutnervensubstanz behandelt wurden, gleich ist.

IV. Serie.

a) Mischung von Blutserum eines Kaninchens, das mit normaler Nervensubstanz immunisiert wurde, und von fixem Virus, auf Ratten einige Zeit nach der Infektion mit fixem Virus vermehrt.

Versuch 21. Mai, 8 Uhr vorm. Eine weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen jede von 1 ccm einer Mischung zu gleichen Teilen von Vaccin und Serum eines mit Emulsion von gesundem Ochsenhirn immunisierten Kaninchens 5 Proz. (25 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm, total 100 ccm). Die Behandlung beginnt 72 Stunden nach erfolgter Infektion.

Resultat. Das Tier weist am 25. Mai, 7 Uhr abends Lähmung auf und verendet am 26. Mai, 12 Uhr nachts.

Versuch 17. Mai 1907. Eine weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Mischung zu gleichen Teilen von Vaccin und Blutserum eines mit Hirnemulsion eines gesunden Ochsen zu 5 Proz. (25 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm, total 100 ccm) immunisierten Kaninchens. Die Behandlung wird 84 Stunden nach erfolgter Infektion begonnen.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

b) Mischung von Blutserum eines mit Wutnervensubstanz und fixem Virus immunisierten Kaninchens, welche einige Zeit nach der Infektion von frischem Virus auf Ratten probiert wurde.

Versuch 16. Mai, 5 Uhr abends. Eine weiße (wie oben) infizierte Ratte wird ebenfalls mit einer Mischung von Serum einer (wie oben) mit Hirnsubstanz eines wutkranken Kaninchens (fixem Virus) 5 Proz. immunisierten Kaninchens behandelt. Man beginnt die Behandlung 72 Stunden nach erfolgter Infektion.

Resultat. Das Tier weist am 25. Mai 7 Uhr abends Lähmung auf und stirbt am 26. Mai 12 Uhr nachts.

Versuch 16. Mai 8 Uhr abends. Eine weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Ratte erhält 3 Tage hindurch täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Mischung zu gleichen Teilen von Vaccin und Serum einer mit Hirnemulsion von einem wutkranken Kaninchen 5 Proz. (2 Einspritzungen von je 2 ccm 25 Tage lang) immunisierten Kaninchen. Beginn der Behandlung 84 Stunden nach der Infektion.

Resultat. Am 26. Mai vorm. 7 Uhr weist das Tier Lähmung auf und verendet am 28. Mai 9, Uhr abends.

Schlußfolgerung. Diese Versuche beweisen, daß die Mischung zu gleichen Teilen von fixem Virus und Serum von einem mit normaler Nervensubstanz immunisierten Kaninchen sich wie die Mischung von fixem Virus und Serum von einem mit Wutnervensubstanz immunisierten Kaninchen verhielt. In der Tat gingen von den mit fixem Virus 72—84 Stunden nach der Infektion behandelten Ratten alle, mit Ausnahme einer einzigen, mit normaler Nervensubstanz immunisierten, zu Grunde. Natürlich darf man diesem zufälligen Vorteile des Blutserums von Kaninchen, das mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden war, durchaus keinen Wert zuerteilen.

V. Serie.

a) Mischung von Blutserum eines mittels normaler Nervensubstanz und fixem Virus, das einige Zeit nach der Infektion mit Virus auf Ratten probiert worden war, immunisierten Kaninchens.

Versuch 17. Mai, 10 Uhr vorm. Eine weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Maus erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Hirnemulsion aus gleichen Teilen von Vaccin und Serum eines mittels einer Hirnemulsion von gesundem Ochsen 5 Proz. (2 Einspritzungen täglich von je 2 ccm 25 Tage lang, total 100 ccm) immunisierten Kaninchens. Die Behandlung wird 6 Tage nach der Infektion begonnen.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 22. Mai, $8^1/_2$ Uhr abends. Eine weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Mischung von gleichen Teilen Vaccin und Serum eines mittelst Hirnemulsion von gesundem Ochsen 5 Proz. (25 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm, im ganzen 100 ccm) immunisierten Kaninchens. Die Behandlung wird 8 Tage nach der Infektion begonnen.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben; es lebt noch am 8. Juni.

b) Mischung von Blut eines mit Wutnervensubstanz und fixem Virus immunisierten Kaninchens, probiert einige Zeit nach der Infektion mit Straßenvirus.

Versuch 16. Mai, abends $8^1/_2$ Uhr. Eine weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratte erhält 3 Tage hindurch täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Mischung zu gleichen Teilen von Vaccin und Serum eines wutkranken Kaninchens (fixem Virus), welches mit einer Emulsion von Hirn eines gesunden Ochsen 5 zu Proz. immunisiert worden war (25 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm, im ganzen 100 ccm). Die Behandlung wird 6 Tage nach der Infektion begonnen.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben; es lebte noch am 8. Juni.

Versuch 16. Mai, abends 8½ Uhr. Eine weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Mischung zu gleichen Teilen Vaccin und Serum eines mittels einer Emulsion von Hirn eines wutkranken Kaninchens zu 5 Proz. fixen Virus immunisierten Kaninchens. Die Behandlung beginnt 8 Tage nach der Infektion.

Resultat. Das Tier bleibt am Leben.

Kontrollversuch 18. Mai. Eine weiße Ratte wird subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat. Sie weist am 2. Juni vorm. 9 Uhr Lähmung auf und stirbt am 3. Juni 8 Uhr abends.

Schlußfolgerung. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Mischung zu gleichen Teilen von fixem Virus und Serum eines mit normaler Nervensubstanz immunisierten Kaninchens sich wie die Mischung von fixem Virus und Serum eines mit Wutnervensubstanz immunisierten Kaninchens verhält. In der Tat blieben alle Ratten, die mit Straßenvirus infiziert waren, am Leben, wenn die Behandlung 6—8 Tage nach der Infektion begonnen wurde.

Schlußfolgerung. Aus diesen 5, an 30 Muriden angestellten Reihenfolgen von Versuchen ergibt sich:

1) Daß die Mischung von fixem Virus und Blutserum von Tieren, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden sind (Hunde, Kaninchen), sich geradeso verhält, wie die Mischung von fixem Virus und Serum von Tieren, die mit Wutnervensubstanz immunisiert sind.

Von 17 mit der Mischung von fixem Virus und Serum von mit normaler Nervensubstanz immunisierten Tieren wurden 13, d. h. 77 Proz., gerettet; von den 18, die mit einer Mischung von fixem Virus und Serum von Tieren, die mit Wutnervensubstanz immunisiert worden waren, immunisierten wurden 13, d. h. 73 Proz., geretttet.

2) Daß die Mischung zu gleichen Teilen von Blutserum eines Hundes und mit einer oder der anderen Nervensubstanz immunisierten Serum alle mit fixem Virus subkutan infizierten Tiere, falls die Behandlung 24 Stunden nach der Infektion begann, rettete.

3) Daß die Behandlung 48 Stunden nach der Infektion nur 1—2 rettete, und daß sie gänzlich wirkungslos war, falls sie 72—84 Stunden später angestellt wurde. Bedeutend wirksamer wäre die Mischung von Blutserum des Kaninchens und Vaccin gewesen, denn mit dieser wäre es gelungen, verschiedene Muriden selbst nach 72 Stunden zu retten. Da jedoch die Anzahl der in diesem Falle angewandten Muriden sehr gering war, so bedarf das Resultat weiterer Bestätigungen.

4) Daß die Mischung von Kaninchenserum und Vaccin imstande war, die mittels Straßenvirus infizierten Muriden selbst 6—8 Tage nach der Infektion zu retten.

5) Daß die Mischung von Serum und Vaccin in Wirklichkeit viel wirksamer zu sein scheint, als das bloße Serum. In der Tat sahen wir, a) daß von den mit fixem Virus und mit bloßem Serum behandelten Tieren, falls die Behandlung 24 Stunden nach der Infektion begonnen wurde, nur die Hälfte gerettet wurde, während von den mit Vaccinserum behandelten alle gerettet wurden; b) daß bei Beginn der Behandlung nach 48 Stunden nur 1:3 überlebten, während mit Vaccinserum die Hälfte am Leben blieb; c) daß beim Beginn nach 72—84 Stunden das Vaccinserum einige Tiere gerettet hatte, daß hingegen kein Unterschied besteht zwischen dem bloßen Serum und dem Vaccinserum bei den mit Straßenvirus infizierten Muriden, denn alle Tiere wurden selbst beim Beginn der Behandlung 6—8 Tage nach der Infektion gerettet.

XVI. Neutralisierende Wirkung des Serums von Tieren, die mit Emulsion von normaler oder Wutnervensubstanz immunisiert sind, auf frisches fixes Virus in vitro.

Die zu diesem Zwecke angestellten Versuche sind folgende:

a) Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz behandelt worden waren.

Versuch 1, 16. März 1907. 2 weiße Mäuse erhalten eine Einspritzung von $^1/_4$ ccm einer Mischuug von 1 ccm fixem Virus zu 1 Proz., 2 ccm Hundeserum (immunisiert mittels 25 Einspritzungen von je 5 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von gesundem Lammhirn), welche 24 Stunden bei einer Temperatur von 15° geblieben war.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2, 16. März 1907. 2 weißen Mäusen wird $^1/_4$ ccm einer aus 1 ccm frischem fixen Virus zu 1 Proz. + 1 ccm vom obigen Serum bestehender Mischung eingespritzt.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 3, 16. März 1907. 2 weißen Mäusen wird $^1/_4$ ccm einer aus 1 ccm frischem fixen Virus zu 1 Proz. + 0,5 ccm obigen Serums bestehenden Substanz eingespritzt.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 4, 16. März 1907. 2 weißen Mäusen wird $^1/_4$ ccm einer aus 1 ccm frischem fixen Virus zu 1 Proz. + 0,1 ccm obigen Serums bestehender Mischung eingespritzt.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

b) Serum von Hunden, die mit Wutnervensubstanz behandelt worden waren.

Versuch 1, 16. März 1907. 2 weißen Mäusen wird $^1/_4$ ccm einer Mischung aus 1 ccm frischem fixen Virus zu 1 Proz. + 0,1 ccm Serum von einem mittels 25 Einspritzungen von je 5 ccm mit Karbolsäure versetzten fixen Virusemulsion immunisiertem Hunde, die 24 Stunden bei einer Temperatur von 15° geblieben, eingespritzt.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2, 16. März 1907. 2 weiße Mäuse erhalten $^1/_4$ ccm einer Mischung obigen Serums aus 1 ccm frischem fixen Virus zu 1 Proz. + 0,5 ccm.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 3, 16. März 1907. 2 weißen Mäusen wird $^1/_4$ ccm einer Mischung aus 1 ccm frischem fixen Virus zu 1 Proz. + 2 ccm obigen Serums eingespritzt.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

Schlußfolgerung. Diese 4 Versuche zeigen, daß das Serum von mittels 25 Einspritzungen von je 5 ccm einer mit Karbolsäure versetzten normalen oder 5-proz. Wutnervensubstanz immunisierten Hunden fähig war, das fixe Virus in vitro zu neutralisieren: 1 ccm Serum neutralisierte 10mal soviel fixes Virus. Geringere Dosen von Serum wurden nicht versucht.

Versuch 5, 14. Mai 1907, 4 Uhr nachm. 6 weiße Mäuse erhalten subkutan $^1/_4$ ccm aus 1 ccm fixem (auf Glycerin 1:500 und 0,05 resp. 0,01, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ccm) Serum eines mittels 2 Einspritzungen von je $2^1/_2$ ccm 25 Tage lang (im ganzen 125 ccm) einer mit Karbolsäure ($^1/_2$ Proz.) versetzten Hirnemulsion von gesundem Ochsen zu 5 Proz. immunisierten Hundes bestehende Mischungen. Diese aus Serum und frischem fixen Virus bestehenden Mischungen waren 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 19° geblieben.

Resultat. Alle Tiere bleiben am Leben.

Versuch 6, 29. Mai 1907, 1 Uhr nachm. 5 weiße Mäuse erhalten subkutan $^1/_4$ ccm aus 1 ccm frischem fixen Virus zu 1:500 und 0,05 resp. 0,01, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ccm Serum von einem Hunde, der mit einer mit Karbolsäure ($^1/_2$ Proz.) versetzten Hirnemulsion von gesundem Ochsen zu 5 Proz. (2 Einspritzungen täglich von je 2,5 ccm 25 Tage hindurch) immunisiert worden war, bestehenden Mischungen. Diese Mischungen von Serum und frischem fixen Virus waren 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 19° aufbewahrt.

Resultat. Die mit einer Mischung von fixem Virus + 0,05 ccm Serum inokulierten Tiere wiesen am 8. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und starben am gleichen Tage 8 Uhr abends. Die anderen 4 blieben am Leben.

In diesen beiden Versuchen wäre also das Blutserum eines mit einer Hirnemulsion vom gesunden Ochsen immunisierten Hundes nicht fähig gewesen, bei den Dosen von 0,05—0,1 ccm 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:500 zu neutralisieren. Da nun die Minimaldosis des fixen Virus aus dem Pasteurschen Institut zu Sassari, die fähig ist, subkutan eine Maus zu töten, $^1/_4$ ccm Emulsion 1:50000 ist, so wäre die wuttötende Kraft des erwähnten Serums fähig gewesen, eine große Anzahl von Einheiten zu neutralisieren.

Kontrollversuch 29. Mai 1907. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $^1/_4$ ccm Emulsion desselben fixen Virus zu 1:1000.

Resultat. Ein Tier weist am 7. Juni 4 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 9. vorm. 7 Uhr.

Versuch 14. Mai 1907 4 Uhr nachm. 6 weiße Mäuse erhalten subkutan $^1/_4$ ccm Mischungen, die aus 1 ccm fixem, auf Glycerin zu 1:500 aufbewahrtem Virus und 0,05 resp. 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ccm Serum eines 25 Tage lang mittels 2 Einspritzungen täglich von je $2^1/_2$ ccm einer mit Karbolsäure versetzten ($^1/_2$ Proz.) Hirnemulsion eines Wutkaninchens (fixem Virus zu 5 Proz.), im ganzen mit 125 ccm Emulsion immunisierten Hundes. Diese Mischungen von Serum und Emulsion von fixem Virus waren 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 19° gehalten.

Resultat. Alle Tiere bleiben am Leben. Nur eines wurde am 2. Juni vorm. 7 Uhr tot aufgefunden. Ursache unbekannt.

Man sieht somit, daß das Blutserum mit Wutvaccin fähig gewesen ist, wie das Blutserum eines mit normaler Nervensubstanz immunisierten Hundes dieselbe Anzahl von infizierenden Einheiten von fixem Virus zu neutralisieren.

Kontrollversuch 14. Juni 4 Uhr nachm. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $^1/_4$ ccm Emulsion desselben fixem Virus von 1:1000.

Resultat. Eine weist am 27. Mai 8 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 30. abends 9 Uhr, die andere ist am 30. vorm. 11 Uhr gelähmt und stirbt am selben Tage 9 Uhr abends.

Die Verspätung des Todes der Kontrolltiere erklärt sich durch die leichte Abschwächung des Glycerins des fixen Virus.

Schlußfolgerung. Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß das Blutserum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden sind, dieselbe neutralisierende Kraft besitzt, wie das Serum von einem mit Wutvaccin immunisierten Hunde. 0,05 ccm sowohl von einem wie vom anderen Serum war fähig, dieselbe Anzahl von infizierenden Einheiten, die in 1 ccm Emulsion von fixem Virus zu 1:500 enthalten sind, zu neutralisieren; die Minimaldosis von fixem Virus im Pasteurschen Institute zu Sassari, um eine Maus zu infizieren, beträgt $^1/_4$ ccm einer Emulsion von 1:50000.

XVII. Unterschied zwischen der immunisierenden Kraft der normalen Nervensubstanz, je nach der Gattung der Tiere.

Nachdem ich bereits einen Unterschied in der immunisierenden Kraft gegen die Wut der normalen Nervensubstanz einiger Säugetiere (Hunde, Ochsen, Schafe, Kaninchen) gefunden hatte, wollte ich sehen, ob ein größerer Unterschied in der Nervensubstanz von Vögeln und Kaltblütern (Frosch) zu finden sei.

Die zu diesem Zwecke angestellten Versuche waren:

a) Normale Nervensubstanz vom Truthahn.

Versuch 19. April 1907. 2 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Hirnemulsion vom Truthahn zu 10 Proz.

Resultat. Eine stirbt am 13. Mai aus unbekannten Gründen, die zweite weist am 14. August 12 Uhr Lähmung auf und stirbt am 20. vorm. 7 Uhr, die dritte wurde am 14. August 7 Uhr vorm. tot gefunden.

b) Normale Hühnersubstanz.

Versuch 19. April 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Hühnerhirnemulsion zu 10 Proz.



Resultat. Eine weist am 2. Mai 8 Uhr abends Lähmung auf und stirbt am 3. Mai 7 Uhr vorm., die zweite ist am 3. Mai 9 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am selben Tage 8 Uhr abends, die dritte ist am 3. Mai 11 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 4. Mai 11 Uhr vorm.

c) Normale Froschnervensubstanz.

Versuch 1, 19. April 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm eines mit Karbolsäure versetzten Emulsion von Froschhirn zu 10 Proz.

Resultat. Eine Ratte stirbt am 26. April, d. i. nach 7 Tagen, aus unbekannten Gründen; eine andere weist am 27. April 9 Uhr vorm. unbestimmte Lähmung auf und stirbt am selben Tage 4 Uhr nachm., ob an der Wut, weiß man nicht; die dritte weist am 7. Mai 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 8. Mai 12 Uhr, d. i. nach 19 Tagen.

Versuch 2, 29. April 1907. Der Versuch wird an 3 schwarzen und 1 weißen Ratte wiederholt.

Resultat. Eine wurde am 4. Mai, d. i. nach 6 Tagen, tot gefunden, eine andere am 8. Mai, d. i. nach 9 Tagen, Ursache unbekannt; die dritte bleibt am Leben.

Kontrollversuch. 29. April 1907. Eine weiße Ratte wird mit Straßenvirus subkutan infiziert.

Resultat. Am 12. Mai 7 Uhr vorm. weist das Tier Lähmung auf und stirbt am 13. Mai 7 Uhr abends.

Schlußfolgerung. a) Die normale Nervensubstanz vom Truthahn rettete 2:3 Tiere. b) Die normale Nervensubstanz vom Frosche 1:6, die anderen 5 starben aus unbekannten Gründen, wahrscheinlich durch Intoxikation. c) Die Nervensubstanz vom Huhn war die mindest aktive der drei Substanzen, da sämtliche Tiere an der Wut verendeten.

Ueberblick auf die erhaltenen Resultate.

Aus den an 538 Tieren angestellten Versuchen geht hervor:

1) Die normale Nervensubstanz vom Lamme rettete 97 Proz. der subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten, die Wutsubstanz aber 88 Proz.[1]).

2) Die zum Vergleich angewandte Testikelemulsion (obwohl dieselben reich an Lecithin sind) erwies sich aller immunisierenden Wirkung bar, da die subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten im Verhältnis von 100 Proz. starben.

3) Die normale Nervensubstanz vom Lamm zu 1:10—20—40000 rettete 71 Proz. der mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten. Bei derselben Verdünnung rettete die Wutnervensubstanz 77 Proz.

Die stark verdünnte normale und Wutnervensubstanz verlieren ein wenig von ihrer immunisierenden Kraft, aber nicht in einem entsprechenden Grade. Denn während die Verdünnung der normalen Nervensubstanz auf 10 Proz, 100 Proz. Ratten, bei der Verdünnung zu 5 Proz. 86 Proz. oder auch 80 Proz. rettete, wurden bei der Verdünnung zu 1:10—40000 nur 71 Proz. gerettet.

Während die Wutnervensubstanz zu 10 Proz. 80 Proz. rettete, wurden bei 1:10—40000 77 Proz. der Ratten gerettet.

4) Die in einigen Versuchen benutzte getrocknete normale Nervensubstanz rettete nur 10 Proz. der subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten, während die Wutnervensubstanz 70 Proz. rettete.

In anderen Versuchen jedoch rettete die Wutnervensubstanz 70 Proz. und die normale 80 Proz.

1) Um die Resultate besser vergleichen zu können, wurde immer der Prozentsatz festgestellt, auch wenn die Versuche nur an einer geringen Anzahl von Tieren vorgenommen wurden.

Die Resultate der beiden Versuchsreihen vereinigend, ergäbe sich also, daß die normale Nervensubstanz 45 Proz. rettete und die Wutnervensubstanz 70 Proz.

5) Die frische normale Nervensubstanz vom Lamme rettete 86,6 Proz. der subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten. Das Pasteursche Vaccin hingegen nur 70 Proz.

6) Sowohl die normale wie die Wutnervensubstanz rettete bei einer Erhitzung auf 100° und auch auf 75° keine von den mit Straßenvirus subkutan infizierten Ratten oder Mäusen.

7) Die mit natürlichem Magensaft behandelte normale Nervensubstanz rettete 100 Proz. der subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten.

Die ebenfalls mit Magensaft behandelte Wutnervensubstanz rettete 80 Proz.

Mit künstlichem Magensaft behandelt, retteten beide Substanzen 80 Proz.

8) Die normale und die Wutnervensubstanz, per os verabreicht, retteten beide 100 Proz. der Mäuse gegen die nachfolgende Infektion durch Straßenvirus.

9) Die normale per rectum eingeführte Nervensubstanz rettete 25 Proz. der Ratten gegen die nachfolgende Infektion durch Straßenvirus.

Die Wutnervensubstanz rettete 33 Proz. und auch 60 Proz. Man muß außerdem bemerken, daß die verbrauchte Wutsubstanz zweimal so groß war als die normale.

10) Serum von Hunden, die mit mit Karbolsäure versetzter normaler Nervensubstanz oder mit Wutnervensubstanz behandelt worden waren, rettete 100 Proz. der subkutan mit fixem Virus infizierten Mäuse.

11) Das Serum von Hunden, die mit normaler oder Wutnervensubstanz immunisiert worden waren, rettete keine der mit fixem Virus infizierten Mäuse, wenn es 84—72 Stunden nachher eingespritzt wurde. 48 Stunden später eingespritzt, rettete es 33 Proz. und 24 Stunden später 50 Proz.

12) Dasselbe Serum von Hunden, die mit normaler oder Wutnervensubstanz immunisiert worden waren, rettete 100 Proz. der mit Straßenvirus infizierten Mäuse, auch wenn es 6—8 Tage später eingespritzt wurde. Bei den Ratten war das Resultat ungewiß.

13) Das Serum von Kaninchen, die mit frischer normaler oder Wutnervensubstanz immunisiert wurden, rettete 66 Proz. der Mäuse, die 6—8 Tage vorher mit Straßenvirus infiziert worden waren.

Das Serum der mit getrockneter normaler Nervensubstanz immunisierten Kaninchen rettete keines der Tiere. Das Serum von Kaninchen, die ebenfalls mit getrockneter Wutsubstanz behandelt worden waren, rettete 33 Proz. der Mäuse. Diese Versuche wurden bei einer größeren Anzahl von Tieren wiederholt.

14) Die Mischung von fixem Virus und Serum von Kaninchen, die mit normaler oder Wutnervensubstanz immunisiert wurden, rettete 100 Proz. der mit fixem Virus infizierten Ratten, selbst nach 8 Tagen.

15) Das Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz, so wie das Serum von Hunden, die mit Wutnervensubstanz immunisiert worden waren, war fähig, in vitro das fixe Virus zu neutralisieren.

16) Die normale Nervensubstanz vom Truthahn war aktiver als jene des Huhns, denn während die vom Truthahn 66 Proz. der Tiere rettete, rettete die vom Huhn kein einziges. Die normale Nervensubstanz vom

Frosche hat wie die des Huhns fast gar keine immunisierende Wirkung. Diese war dazu noch sehr toxisch, denn 5:6 der Tiere starben vor der Zeit, nicht an der Wut.

Allgemeine Schlußfolgerung.

Aus den oben angeführten Resultaten kann man folglich den Schluß ziehen, daß man fast keinen Unterschied zwischen der immunisierenden Wirkung der normalen und der Wutnervensubstanz finden konnte, obgleich man die Tiere mit beiden Substanzen in einer Konzentration von 5–10 Proz., oder in stärkerer Verdünnung, d. h. von 1:1000–1:40000, immunisierte, oder obwohl man die immunisierende Kraft alterierte, indem man die Substanzen der Temperatur von 100° oder auch nur 75° 15–30 Minuten lang, oder der Wirkung des Magensaftes aussetzte, oder ob dieselben per os, wie sie waren, verabreicht wurden, oder mit chemischen Faktoren (Salzsäure 3:1000) behandelt, oder per rectum verabreicht wurden, ob man die immunisierende Wirkung des Serums dieser mit demselben behandelten Tiere wiederholt und verschiedentlich oder die neutralisierende Wirkung desselben Virus auf Wutvirus in vitro verglich.

Einen ausgeprägten Unterschied zu Gunsten der Wutnervensubstanz hätte man durch Abschwächung der immunisierenden Wirkung der beiden Substanzen mittels der Austrocknung nach der Methode Pasteur (auf Natron, bloß 3 Tage lang, Temperatur 18–20°) gefunden.

Jedoch wurde diesem Resultat in einer anderen Serie von Versuchen vollständig widersprochen, und man hatte sogar eine leichte Superiorität in der immunisierenden Wirkung der normalen Nervensubstanz.

Das Austrocknen setzt beständig die immunisierende Wirkung der Wutnervensubstanz herab, denn während dieselbe im frischen Zustande (mein Vaccin) 100 Proz. der Tiere rettete, rettete sie im getrockneten Zustande (auf Natron nur 3 Tage hindurch bei ungefähr 18°), wie gesagt, nur 70 Proz.

Demnach ist das Austrocknen bei der Bereitung des Antiwutvaccins vollständig abzuschaffen, indem man das Pasteursche Vaccin durch ein mit fixem Virus bereitetes und mittels Antiseptika (Karbolsäure 0,5–1 Proz.) sterilisiertes zu ersetzen hat.

Aus meinen Versuchen ergibt sich endlich, daß bei den Muriden die immunisierende Wirkung gegen die Wut der normalen frischen Nervensubstanz vom Lamme dem Pasteurschen Vaccin nicht nachsteht.

Sicher ist, daß die immunisierende Wirkung gegen die Wut, je nach der Gattung der Tiere, von denen es kommt, verschieden ist. Ich hatte bereits Gelegenheit, an anderer Stelle den ausgeprägten Unterschied zwischen der Nervensubstanz vom Frosche und vom Huhn und der vom Hunde, Kaninchen und Truthahn nachzuweisen. Somit ist es beim Vergleich der verschiedenen Impfstoffe notwendig, stets die Nervensubstanz derselben Gattung von Tieren zu vergleichen.

Zwischen der Nervensubstanz der verschiedenen Tiere besteht ein Unterschied; so ist die Nervensubstanz vom Lamm viel stärker als die vom Huhn oder vom Frosche, die negative Resultate gegeben haben. Ziemlich gute Resultate gab hingegen die Nervensubstanz des Truthahns.

Metschnikoff, Courmont und Doyon fanden etwas ähnliches in Bezug auf das Tetanusgift; nach diesen Verfassern steht die anti-

toxische Wirkung der Hirnsubstanz des Frosches und des Huhnes bei weitem hinter jener des Pferdes, des Meerschweinchens u. s. w. zurück.

Die Reihenfolge endlich in Bezug auf die immunisierende Wirkung der verschiedenen normalen versuchten Nervensubstanzen wäre, unter Vorbehalt, dieselbe durch weitere Forschungen zu bestätigen: Ratte, Kaninchen, Lamm, Ochse, Hund, Truthahn, Frosch, Huhn. Die immunisierende Kraft der normalen Nervensubstanz scheint daher mit der Empfänglichkeit der Tierart an der Wutkrankheit zu steigen.

Tetanusgift im Serum eines diphtherieimmunisierten Pferdes, 5 Tage vor dem Ausbruch von Tetanus.

[Aus Statens Seruminstitut in Kopenhagen.]

Von **Thorvald Madsen.**

Ueber die untenstehende Beobachtung, die möglicherweise für andere Heilsera produzierende Institute Interesse darbieten dürfte, will ich ganz kurz referieren.

Einem roten Wallach, Gewicht 456 kg, der seit $1^1/_2$ Jahren zur Diphtherieantitoxinproduktion gedient hatte, wurden in der Zeit vom 10. Febr. bis 15. März 8 subkutane Injektionen von Diphtheriegift, von 30 bis 300 ccm steigend, gemacht. Nur an dem Tage, wo die 2 letzten Injektionen von 200 ccm Gift (am 12. März) und 300 ccm (am 15. März) appliziert wurden, wurde abends eine Temperaturerhöhung bis 38,5° beobachtet; sonst war die Temperatur immer normal und die Infiltrate waren nach den Injektionen immer nach 24 Stunden vollständig verschwunden.

An dem Tier wurde am 21. März gar kein krankhaftes Symptom wahrgenommen, wo in der üblichen Weise 9 Liter Blut abgelassen wurden. Noch am 25. März abends machte das Pferd einen vollkommen normalen Eindruck, am 26. März aber war das charakteristische tetanische Symptomenbild da: Der Kopf war steif aufgerichtet, das Kauen wegen Trismus unmöglich, große Starre der Extremitäten, der Schwanz steifgestreckt. Trotz sorgfältiger Untersuchung konnte keine Infektionsquelle gefunden werden. Im Laufe des Vormittags rasche Zunahme der Symptome, weshalb das Pferd mittags getötet wurde.

Serum von dem am 21. März genommenen Blut wurde an demselben Tage auf 300, 400 und 500 Diphtherieantitoxineinheiten geprüft. Alle Meerschweinchen starben mit dem für Diphtherietoxinvergiftung charakteristische Befunde. Gleichzeitig (21. März) wurden, wie hier am Institut immer üblich, 10 ccm von diesem Serum subkutan einem Meerschweinchen (No. 1) injiziert. Noch am 27. März zeigte sich dieses Tier ganz normal, mit einer Gewichtszunahme von 70 g; am 28. März leichte tetanische Symptome und am 30. März Tod an starken Tetanus.

Dieses Serum vom 21. März, das im Kühlschrank aufgehoben wurde, wurde am 26. März durch eine Chamberland-Kerze gezogen, um etwaige Tetanuskeime zu entfernen. Injektion auf Meerschweinchen von 250 g Gewicht ergab folgendes:

Meerschweinchen No.	Serum ccm			
2	10	Nach 3 Tagen starker	Tetanus	† n. $3^1/_2$ Tg.
3	5	„ 3 „ „	„	† n. 8 „
4	3	„ 4 „ „	„	bleibt leben
5	1	„ 4 „ mittelstarker	„	„ „
6	0,5	„ 5 „	Spur	„ „
7	0,5	Keine Symptome		„ „

Um die Zuverlässigkeit der Filtration nochmals zu prüfen, wurde eine neue Probe des Serums durch eine andere Kerze gezogen. 8 ccm von diesem Filtrat töteten ein Meerschweinchen in 3 Tagen. Durch Tetanusantitoxin wurde die Toxizität aufgehoben.

Das filtrierte Serum von dem Pferd unmittelbar vor der Tötung rief in einer Dosis von 4 ccm tödlichen Tetanus bei Meerschweinchen hervor.

Es ist somit sehr wahrscheinlich, daß das Serum schon am 21. März freies Tetanusgift enthielt. Zwar kann man nicht die Möglichkeit vollkommen ausschließen, daß es Tetanuskeime waren, die das Meerschweinchen No. 1 mit einer Inkubationszeit von 7 Tagen töteten, und die später während der Aufbewahrung des Serums vom 21. bis 26. März darin Tetanusgift entwickelt hatten. Dieses ist aber doch höchst unwahrscheinlich, da das Serum bei ca. 2° C aufbewahrt wurde.

Bedeutende Mengen von Tetanusgift können also schon 5 Tage vor dem Ausbruch der Symptome frei im Kreislaufe gefunden werden. Rechnet man mit Behring und Knorr, daß das Pferd doppelt so empfindlich gegen Tetanustoxin ist, wie das Meerschweinchen, so muß dieses Tier am 21. März wenigstens 3 tödliche Dosen in seinem Blute gehabt haben.

Nach den bekannten Untersuchungen von Dönitz[1]), Knorr[2]), Decroly und Ronsse[3]), Ransom[4]) u. A. verschwindet das Tetanusgift ziemlich schnell aus dem Blute und wird wahrscheinlich in den Geweben gebunden. Wenn die Verhältnisse bei tetanusinfizierten Pferden nicht ganz anders liegen, muß angenommen werden, daß es sehr bedeutende Mengen Tetanusgift sind, die fortwährend aus dem unbekannten Focus ausgeschieden werden, in den Kreislauf übergehen und in den Geweben gebunden werden, lange bevor die klinischen Symptome zum Vorschein kommen.

Diese Beobachtung fordert von neuem dazu auf, den Gesundheitszustand der antitoxinproduzierenden Tiere so genau wie möglich zu überwachen.

Wie bekannt, wurde in den Vereinigten Staaten eine Reihe von Tetanusfällen durch antidiphtherisches Serum verursacht, das von einem Pferd einen Tag vor dem Ausbruch des Tetanus gewonnen war[5]). Es vergingen in unserem Fall 5 Tage zwischen dem Aderlaß und dem Ausbruch, und möglicherweise war das Blut schon früher toxisch gewesen.

Eine Sicherheit gewährt es ja, daß Heilsera gewöhnlich erst mehrere Monate nach dem Aderlaß verschickt werden, so daß ein latenter Tetanus

1) Dönitz, Ueber das Antitoxin des Tetanus. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 27.)

2) Knorr, Die Entstehung des Tetanusantitoxins im Tierkörper und seine Beziehung zum Tetanusgift. (Fortschr. d. Med. 1897. 1. Sept.)

3) Decroly et Ronsse, Pouvoirs toxique et antitoxique du sang après injection intraveineuse de venin, toxine ou antitoxine. (Arch. internat. de Pharmac. et de Thérap. T. VI. 1899.)

4) Ransom, Die Lymphe nach intravenöser Injektion von Tetanustoxin und Tetanusantitoxin. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXIX. 1900. p. 349.)

5) The tetanus cases in St. Louis. (New York med. Journ. 1901. p. 977.)

wohl immer Zeit genug hat, um zum Vorschein zu kommen. Diese Sicherheit fehlt jedoch, wenn das Pferd durch Verblutung getötet oder unmittelbar nach dem Aderlaß verkauft oder geschlachtet wird, u. dergl. Auch können solche Fälle vorkommen, wo es wünschenswert erscheint, Serum so kurze Zeit nach dem Aderlaß zu verwenden, wie die Beendigung der Antitoxinproben es zuließ.

Es ist deswegen unbedingt notwendig, daß die Prüfung eines Heilserums in sich schließt die subkutane Injektion von ca. 10 ccm auf ein Meerschweinchen, das ca. 2 Wochen sorgfältig beobachtet wird. (Das Meerschweinchen No. 1 zeigte erst nach 10 Tagen Tetanussymptome.) Diese Forderung schließt sich auch der staatlichen Prüfung der Heilsera an, wie sie in Deutschland und den Vereinigten Staaten von Amerika ausgeführt wird.

Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Straßburg und aus der bakteriologischen Abteilung der chemischen Fabrik auf Aktien, vorm. E. Schering, Berlin.]

Von Prof. Dr. **E. Levy**, Dr. **Franz Blumenthal** und Dr. med. vet. **A. Marxer**.

1. Mitteilung.

Abschwächung bezw. Abtötung von Tuberkelbacillen mittels chemisch indifferenter Mittel.

In einer früheren Arbeit in diesem Centralbl. (Abt. I. Orig. Bd. XLII) haben wir schon darauf hingewiesen, daß es durch chemisch indifferente Körper in konzentrierten Lösungen gelingt, Mikroorganismen durch Veränderung des osmotischen Druckes abzuschwächen und abzutöten. Diese Versuche haben wir in großem Maßstabe ausgeführt, in der Absicht, so Immunisierungsmittel gegen verschiedene Mikroorganismen zu erhalten, gegen die eine Immunisierung bisher nicht gelungen ist. In einer kürzlich erschienenen Arbeit[1]) sind wir ausführlich auf unsere mit Rotzbacillen angestellten Versuche eingegangen und haben gezeigt, daß es gelingt, mit derartig vorbehandelten Bacillen Meerschweinchen und Pferde gegen Rotz zu immunisieren. Im folgenden wollen wir auf unsere Versuche mit Tuberkelbacillen näher eingehen. Wir werden in dieser Mitteilung zunächst nur diejenigen Versuche erwähnen, welche die Abschwächungs- und Abtötungswirkung der von uns verwendeten Lösungen auf Tuberkelbacillen humaner und boviner Herkunft zeigen. In einer demnächst erscheinenden zweiten Mitteilung wollen wir dann unsere Immunisierungsversuche gegen experimentelle Tuberkulose ausführlich besprechen.

Wir werden uns darauf beschränken, über diejenigen Versuche zu berichten, die wir mit 25-proz. Galaktose-, 10-proz. und 25-proz. Harnstoff- und 80-proz. Glycerinlösungen ausgeführt haben. Wie wir schon

1) Levy, E., Blumenthal, Franz und Marxer, A., Ueber Immunisierung gegen die Rotzkrankheit. (Zeitschr. f. Infektionskrankh., parasitäre Krankh. u. Hyg. der Haustiere. Bd. III. 1907. Heft 3/4.)

früher angegeben haben, ist die Stärke der Einwirkung der Lösungen abhängig von der Höhe der Konzentration der Bakterien und der angewandten Temperatur. Um nicht unnötig die Uebersichtlichkeit zu beeinträchtigen, berücksichtigen wir im folgenden nur diejenigen Versuche, die bei 37° angestellt wurden. Zum Nachweis des Abgestorbenseins der Tuberkelbacillen wendeten wir fast ausschließlich die Meerschweinchenimpfung an, da sie uns als das sicherste Mittel erschien, um eine Abtötung festzustellen, und zwar betrachteten wir die Bacillen als abgetötet, wenn wenigstens 1 mg derselben keine Krankheitserscheinungen bei den subkutan geimpften Tieren hervorrief. Die Tiere wurden 4 bis 6 Wochen beobachtet und dann seziert. Wir glaubten um so mehr auf einen Kulturversuch verzichten zu dürfen, als hierbei die Resultate wohl doch nicht sehr sicher gewesen sein würden und ferner auch die vergleichenden Untersuchungen an Rotzbacillen gezeigt haben, daß die Tierimpfung der Kulturmethode überlegen ist. Mehr wie 1 mg behandelter Tuberkelbacillen zur regelmäßigen Prüfung auf Abtötung den Meerschweinchen einzuspritzen, erscheint uns überflüssig, da unsere frisch gewachsene Kultur so virulent war, daß $^{1}/_{100000}$ mg, filtriert, noch ausreichte, um die Tiere zu töten.

Bei unseren Arbeiten mußten wir sorgfältig darauf bestrebt sein, eine dauernd gleichmäßige Durchtränkung der Bakterien mit den Lösungen uns zu sichern. Deswegen wurden gleich von Anbeginn an die zugeschmolzenen, mit den Suspensionen beschickten Röhrchen in einem Schüttelapparat bei 37° geschüttelt. Damit war unsere Methode noch in einem weiteren Punkte vervollkommnet. Es werden nämlich, wie aus den Arbeiten von Brieger, Bassenge und Mayer[1]) hervorgeht, beim einfachen Schütteln bereits wirksame Stoffe von den Bakterien losgerissen.

Tabelle I.

25-proz. Galaktoselösungen. Konzentration 5 mg Tuberkelbacillen auf 4 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
360	600	14. Aug. 5 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H. (Linke Achselhöhle)	12. Sept. getötet. Sektionsbefund negativ
362	320	4. Nov. 1 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	15. Dez. wie 360
364	350	16. Dez. 1 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	17. Jan. wie 360
366	640	20. Febr. $1^{1}/_{2}$ mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	3. April wie 360
367	460	1 mg wie 366	wie 366
368	370	26. Jan. 1 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	13. März wie 360
370	300	5. April 5 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	7. Mai wie 360
69	240	30. Mai 1 mg 4-täg. sc. L. A H.	gesund geblieben
84	210	24. Juni 2 mg 4-täg. sc. L. A. H.	nach 3 Monaten keine Erscheinungen, zur Immunisierung benutzt
85	200	24. „ 4 mg 4-täg. sc. L. A. H.	wie 84
86	195	24. „ 3 mg 4-täg. sc. L. A. H.	wie 84
160	270	23. Okt. 1 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	nach $3^{1}/_{2}$ Monaten keine Erscheinungen, zur Immunisierung benutzt
168	325	9. Nov. 1 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	nach 3 Monaten keine Erscheinungen, zur Immunisierung benutzt
169	355	9. „ 1 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	wie 168
217	225	17. März 1 mg $4^{1}/_{2}$-täg. sc. L. A. H.	14. April getötet, normal
218	200	wie 217	wie 217

1) Brieger und Mayer, M., Zur Gewinnung spezifischer Substanzen aus Typhusbacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 27.) — Bassenge und Mayer, M., Zur Schutzimpfung gegen Typhus. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 18.)

Tabelle II.

25-proz. Galaktoselösungen. Konzentration 5 mg Tuberkelbacillen auf 4 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
121	300	14. Sept. $^1/_4$ mg 3-täg. sc. L. A. H. (Linke Achselhöhle)	18. Okt. getötet. Absceß und Drüse L. A. H., allgemeine Tuberkulose
122	320	wie Tier 121	wie Tier 121
123	280	„ „ 121	„ „ „
124	265	„ „ 121	„ „ „
115	345	13. Sept. $^1/_5$ mg 2-täg. sc. L. A H.	14. Nov. getötet, allg. Tuberkulose
116	315	wie Tier 115	wie Tier 115
117	300	„ „ 115	„ „ „
118	355	„ „ 115	„ „ „
95	160	27. Juli $^1/_5$ mg 1-täg. sc. L. A. H.	6. Sept. getötet. Allg. Tuberkulose
96	140	wie Tier 95	13. „ „ „ „
97	190	„ „ 95	„ „ „
98	200	„ „ 95	„ „ „
111	280	$^1/_{10}$ mg 1-täg. sc. L. A. H.	21. Okt. „ „ „
112	340	wie Tier 111	wie Tier 111
113	305	„ „ 111	13. Nov. tot aufgefunden. Allgem. Tuberkulose
114	360	„ „ 111	27. Okt. allgemeine Tuberkulose

Die Anwendung der Zuckerarten, von denen wir nur die mit 25-proz. Galaktoselösung angestellten Versuche erwähnen wollen, zeigen, daß bei einer Konzentration von 5 mg Bacillen auf 4 ccm Lösung 4—5 Tage nötig sind, um die Tuberkelbacillen abzutöten. 5 mg Bacillen werden dann von Meerschweinchen anstandslos ertragen. Die 3-tägigen Bacillen sind in ihrer Pathogenität erheblich herabgesetzt. Meist töten sie zwar in Mengen von $^1/_4$—$^1/_2$ mg, doch haben wir hin und wieder Tiere gesehen, die selbst 1 mg glatt vertragen haben. 2-tägige wirken meist in Dosen von $^1/_2$—$^1/_5$ mg, 1-tägige in Dosen von $^1/_{10}$ mg (Tab. I u. II). Es kommt ganz selten vor, daß größere Dosen 1-tägiger keine Veränderungen hervorrufen.

Tabelle III.

80-proz. Glycerin. Konzentration 5 mg Tuberkelbacillen in 5 ccm bei den ersten 7 Tieren und 100 mg in 5 ccm bei den letzten.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
321	300	26. Mai 1 mg 2-täg. sc. L. A. H.	13. Aug. getötet. Sektionsbefund negativ
322	265	wie Tier 321	wie Tier 321
323	540	13. März 1 mg 2-täg. sc. L. I. (Inguinal)	wurde zu weiteren Versuchen verwandt. Keine Veränderungen
324	680	wie Tier 323 sc.	wie Tier 323
325	560	„ „ 323 sc.	„ „ 323
326	280	10. April 1 mg 2-täg. sc. R. A. H.	„ „ 323
327	245	wie Tier 326 sc.	„ „ 323
352	250	2. Juli 5 mg 9-täg. sc. L. A. H.	8. Juli interkurrent tot. L.-Drüse verkäst
353	300	2. Juli 10 mg 9-täg. sc. L. A. H.	23. Aug. getötet. Sektionsbefund negativ
354	290	2. Juli 10 mg 9-täg. ip. (intraperit.)	wie Tier 353

In einer Konzentration von 0,001 g Bacillen auf 1,0 80-proz. Glycerin sind die Bacillen nach 2 Tagen, wie dies auch aus unseren früheren Glycerinarbeiten ersichtlich ist, völlig abgetötet, bringt man 0,02 auf

1,0 der Glycerinlösung, so sind dieselben erst nach 9 Tagen ganz tot. Meerschweinchen von 250—300 g vertragen 5—10 mg subkutan und intraperitoneal und zeigen nach 6 Wochen bei der Sektion keinerlei Veränderungen.

Tabelle IV.

80-proz. Glycerin. Konzentration 5 mg in 4 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
331	195	19. März 05 1 mg 1-täg. in l. Kniefalte	1. April interkurrent tot. Keine tuberkulösen Veränderungen
332	215	wie Tier 331	2. Sept. allg. Tuberkulose. Lungen Kavernen
333	205	„ „ 331	16. Aug. wie Tier 332
334	650	4. April 05 1 mg 1-täg. L. A. H.	30. Mai interkurrent tot
335	330	26. Mai wie Tier 334	20. Nov. allg. Tuberkulose
336	275	„ „ 334	15. Nov. allg. Tuberkulose. Lungen Kavernen
337	345	„ „ 334	5. Dez. wie Tier 336
338	355	„ „ 334	3. „ „ „ 336
339	130	1. Aug. 05 $^1/_5$ mg 1-täg. L. A. H.	16. Aug. tot. Leber miliare Knötchen
340	185	wie 339	13. Jan. 06 allg. Tuberkulose. Lungen Kavernen
341	165	1. Aug. 1 mg 1-täg. L. A. H.	22. Jan. 06 allg. Tuberkulose
342	175	wie Tier 341	wie Tier 341
343	300	17. Jan. 06 $^1/_2$ mg 1-täg. L. A. H.	10. Juni 06 „ „ 340
344	300	wie Tier 343	2. April 06 tot, beide Achseldrüsen tuberkulös, Bronchialdrüsen, Milz tuberkulös
345	300	17. Jan. 06 $^1/_4$ mg 1-täg. L. A. H.	26. Juni 06 wie 341
346	400	wie Tier 345	3. Juli 06 wie Tier 340
347	335	17. Jan. 06 $^1/_{10}$ mg 1-täg. L. A. H.	30. März 06 linke Achseldrüsen verkäst, Milz einzelne Tuberkel
348	315	wie Tier 347	4. Juli 06 wie Tier 340
349	620	17. Mai 05 $^1/_{20}$ mg 1-täg. R. A. H.	zu weiteren Versuchen verwandt
350	255	4. April 05 1 mg 1-täg. L. A. H.	wie Tier 349
351	692	wie Tier 350	„ „ 349
329	330	20. Juli $^1/_{50000}$ mg vir. L. A. H.	17. Nov. tot. Allgem. Tuberkulose

Nach 1-tägigem Schütteln in 80-proz. Glycerinlösung sind die Tuberkelbacillen in der Konzentration von 5 mg auf 4 ccm so weit abgeschwächt, daß größere Mengen nötig sind, um ein Meerschweinchen zu töten. Die niedrigste Menge, die zur erfolgreichen Infektion angewandt werden muß, beträgt $^1/_{20}$ mg. Die 2500—5000fache Dosis 1-tägiger glycerinierter Bacillen ist also erforderlich, um das Tier in derselben Zeit zu Fall zu bringen, wie mit vollvirulenten Bacillen. Zu unseren früheren Glycerinarbeiten hatten wir schwächere Konzentrationen von Bacillen verwandt und so stärkere Abschwächung erzielt.

Wie aus den Tabellen V, VI und VII hervorgeht, sind in einer Konzentration des Harnstoffes von 5 mg auf 4 ccm 25-proz. Lösung die Tuberkelbacillen nach 2 Tagen völlig unschädlich in Dosen bis zu 1 mg. Eine 1-tägige Behandlung schwächt dieselben merklich ab. So zeigen mit 1 mg geimpfte Tiere meist keine weiteren Erscheinungen nach 3 Monaten als lokale Veränderungen (Tier 141, 142); Tier 143 weist sogar nach 5 Monaten noch keine tuberkulösen Veränderungen auf. Tiere, die mit kleinen Dosen $^1/_{10}$—$^1/_{500}$ geimpft waren, blieben meist dauernd frei von Tuberkulose. Bei dem zu diesen Versuchen benutzten Stamm, der in der Dosis $^1/_{100000}$ mg Meerschweinchen subkutan stets tötete, bedeutet dies eine außerordentlich starke Abschwächung. 10-proz. Harn-

stofflösung wirkt wesentlich schwächer ein, so macht auch noch nach 4-tägiger Behandlung 1 mg Tiere ausnahmslos tuberkulös. Die Abschwächung tritt auch hier deutlich zu Tage. Es sind bei dem mit in 10-proz. Urealösungen behandelten Bacillen geimpften Tieren nach 4 bis 5 Wochen die Erscheinungen noch sehr geringe. Bei 5-proz. Lösungen haben wir keine Einwirkungen beobachten können.

Tabelle V.
10-proz. Harnstoff. Konzentration 5 mg in 4 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
210	200	6. März 1 mg 3-täg. sc. L. A. H.	12. April lokal verkäste Drüse, beginnende Tuberkulose der inneren Organe
211	200	wie Tier 210	do. do. do.
212	205	„ „ 210	do. do. do.
213	215	7. März 1 mg 4-täg. sc. L. A. H.	14. April wie Tier 210
214	210	wie Tier 213	2. April lokal an der Injektionsstelle Knötchen, sonst keine Veränderung
215	200	8. März 1 mg 5-täg. sc. L. A. H.	21. April lokal Absceß, Drüse L. A. H. ganz beginnende Tuberkulose der inneren Organe

Tabelle VI.
25-proz. Harnstoff. Konzentration 5 mg in 4 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
140	250	12. Okt. 1 mg 1-täg. sc. L. A. H.	29. März getötet. Allg. Tuberkulose
141	290	wie Tier 140	4. Dez. L. A. H. käsiger Knoten, sonst nichts auf Tuberkulose verdächtiges
142	365	„ „ 140	25. Jan. getöt., L. A. H. Drüsen, sonst nichts auf Tuberkul. verdächtiges
143	270	„ „ 140	17. März zu weiteren Versuchen benutzt
189	280	18. Jan. $^1/_{10}$ mg 1-täg. sc. L. A. H.	7. April wie Tier 143
190	250	wie Tier 189	„ „ 143
191	270	18. Jan. $^1/_{50}$ mg 1-täg. sc. L. A. H.	„ „ 143
193	210	wie Tier 191	„ „ 143

Tabelle VII.
25-proz. Harnstoff. Konzentration 5 mg in 4 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultate
148	325	14. Okt. 1 mg 3-täg. sc. L. A. H.	16. Jan. zu weiteren Versuchen benutzt
149	290	wie Tier 148	23. Mai tot aufgefunden. Kleiner Abceß L. A. H., 2 mit dem Eiter geimpfte Tiere bleiben gesund
150	305	„ „ 148	Gesund geblieben wie 148
151	300	„ „ 148	„ „ „ „
144	280	13. Okt. 1 mg 2-täg. sc. L. A. H.	16. Jan. zu weiteren Versuchen benutzt
145	270	wie Tier 144	16. „ „ „ „ „
147	360	„ „ 144	16. „ „ „ „ „

Aendert man die Konzentration, so ergeben sich ganz andere Abschwächungs- und Abtötungszeiten. Die folgenden Tabellen (VIII u. IX) bringen Versuche, die in einer Emulsion von 0,1 Bacillen auf 5 ccm 25-proz. Harnstofflösung ausgeführt wurden.

Tabelle VIII.

25-proz. Harnstoff. Konzentration 0,1 in 5 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
	4		
255	300	17. Jan. 1 mg $8^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	9. März getötet. Sektionsbef. negativ
256	390	7 „ wie Tier 255	wie Tier 255
263	360	20. März 1 mg $8^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	17. Mai getötet. Sektionsbef. negativ
264	385	5 „ wie Tier 263	8. Mai wie Tier 263
265	380	10 „ „ „ 263	17. Mai getötet. L. A.-Dr. käsige Herde. Käse auf Tiere verimpft erzeugt keine Veränderungen mehr
266	400	20. März 1 mg $8^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	18. April tot, wie Tier 263
267	390	5 „ wie Tier 266	17. Mai getötet, wie Tier 265
268	385	10 „ „ „ 266	8. Mai wie Tier 255
269	760	17. April 6 mg $8^{3}/_{4}$-täg. L. A. H.	17. Mai „ „ 265
270	580	8 „ wie Tier 269	22. Okt. „ „ 265
271	240	3. Mai 1 mg $8^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	19. Juni „ „ 255
272	210	4 „ wie Tier 271	„ „ 271
273	230	10 „ „ „ 271	„ „ 271
274	290	8. Juni 10 mg 9-täg. L. A. H.	13. Juli „ „ 265
275	240	5 „ wie Tier 274	15. Juli „ „ 255
276	240	35 „ „ „ 274	„ „ 265
277	390	6. Juni 10 mg 9-täg. L. A. H.	13. Juli „ „ 265
278	270	8. „ 5 „ wie Tier 277	6. Sept. „ „ 255
279	250	15 „ „ „ 277	13. Juli „ „ 265
280	240	20 „ „ „ 277	6. Sept. „ „ 265
281	350	10. Aug. 10 mg 9-täg. L. A. H.	30. Sept. „ „ 255
282	340	15 „ wie Tier 281	„ „ 255
283	300	15 „ „ „ 281 ip.	„ „ 255
284	380	10. Aug. 10 mg 9-täg. L. A. H.	„ „ 255
285	390	15 „ wie Tier 284	„ „ 255
286	280	15 „ „ „ 284 ip.	„ „ 255

Tabelle IX.

25-proz. Harnstoff. Konzentration 0,1 in 5 ccm.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
245	300	23. Dez. 06 10 mg $6^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	11. Jan. getötet: r. Lungenspitze miliare Tbk., ebenso in Milz u. Leber. Keine Drüse an der Injektionstelle
246	300	wie Tier 245	11. Jan. getötet: L. A. Dr. verkäst u. Bronchialdrüse
249	450	12. Jan. 07 1 mg $7^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	20. Febr. getötet: indurierte Drüse
250	385	12. Jan. 9 mg $7^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	20. Febr. getötet: vordere Lungenlappen hepatisiert, keine Drüse L. A. H.
251	440	13. Jan. 1 mg 8-täg. L. A. H.	9. März getötet: L. A. Drüse verkäst. Bronchialdrüse u. Milz tuberkulös
257	760	8. Febr. 3 mg $7^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	18. Febr. tot: r. Lunge hepatisiert und nekrotische Herde. Keine Drüse L. A. H.
260	430	8. Febr. 2 mg $7^{1}/_{2}$-täg. L. A. H.	27. Febr. Bronchialdrüse verkäst. Pleuritis villosa. Milz vergrößert. Keine Drüse L. A. H.

Erst nach $8^1/_2$ Tagen ist in der Konzentration 0,1 zu 5 ccm die Abtötung eine sichere. Von $8^1/_2$- und 9-tägigen Bacillen vertragen Meerschweinchen ganz außerordentlich große Mengen. So zeigt Tier 276, das mit 35 mg subkutan geimpft ist, nach 5 Wochen noch keinerlei progrediente tuberkulöse Veränderungen. Andere Tiere (279, 280, 282, 283 u. s. w.) vertrugen 15 und 20 mg. Dagegen haben mit $7^1/_2$—8 Tage geschüttelten Bacillen geimpfte Tiere nach 5 Wochen schon tuberkulöse Erscheinungen.

Zum Schlusse wollen wir noch einige Versuche anfügen, die wir an Kaninchen mit Rindertuberkelbacillen angestellt haben, die wir mit 25-proz. Harnstofflösung in der zuletzt erwähnten Konzentration behandelt hatten.

Tabelle X.

Kaninchen	Gewicht	Dosis und Einwirkungszeit	Resultat
9	910	19. April 40 mg 3-täg. iv. (intravenös)	6. Juli zu weiteren Versuchen verwandt
11	850	60 „ 3-täg. iv.	27. Mai Lunge miliare Tuberkulose. Bronchialdrüsen
37	800	22. April $^1/_2$ „ vir. iv.	15. Mai tot: Lunge miliare Tuberk. Bronchialdrüsen
13	800	19. April 80 „ 5-täg. ip. (intraperitoneal)	6. Juli zu weiteren Versuchen verwandt
17	840	60 „ $6^1/_2$-täg. iv.	wie Tier 13
18	850	40 „ 7-täg. iv.	„ „ 13
20	1450	20. April 40 „ $7^1/_2$-täg. iv.	12. Juni interkurrent tot. Keine tuberkulöse Veränderung
22	1080	40 „ 8-täg. iv.	6. Juli wie Tier 9
25	950	60 „ 8-täg. iv.	„ „ 9
28	1160	40 „ $7^1/_2$-täg. iv.	„ „ 9
29	1160	60 „ $7^1/_2$-täg. iv.	„ „ 9

Obenstehende Tabelle führt uns den Grad der Abschwächung der Tuberkelbacillen sehr gut vor Augen. So beweist Kaninchen 9, daß 3-tägige Bacillen in der großen Menge von 40 mg vertragen werden, 60 mg dieser Emulsion töteten das Tier 11 erst nach 5 Wochen, während $^1/_2$ mg virulenter (unbehandelter) Bacillen schon den Tod des Kaninchens 37 in weniger als 4 Wochen herbeiführte. Aus den anderen Tieren dieser Tabelle geht hervor, daß die intravenöse Injektion von abgeschwächten Tuberkelbacillen einen Unterschied zwischen stark abgeschwächten und ganz toten Bacillen nicht mehr zuläßt. Abgeschwächte Bacillen können scheinbar im Kaninchenkörper vegetieren, ohne makroskopische Veränderungen hervorzurufen. Die Organe solcher Tiere (20), die 7 Wochen nach der intravenösen Injektion von abgeschwächten Bacillen zu Grunde gehen, erweisen sich als frei von makroskopischen tuberkulösen Veränderungen, aber doch als virulent für Meerschweinchen.

Die Injektion von Bacillen, die weniger als $8^1/_2$ Tage behandelt sind, rufen bei Meerschweinchen (s. Tab. IX) eine fortschreitende Tuberkulose hervor, wobei allerdings manchmal die Drüsen der Injektionsstelle und diese selbst ohne makroskopische Veränderungen bleiben können. Ferner schreitet der Krankheitsprozeß langsam fort im Verhältnis zur Injektionsmenge, wenn man damit die geringe Zahl virulenter Bacillen vergleicht ($^1/_{50000}$—$^1/_{100000}$), die nötig ist, um ein Tier in 3—4 Monaten zu töten. Kaninchen vertragen eine beträchtliche Menge solcher abgeschwächter Bacillen (5—8-tägiger), ohne nach 3 Monaten äußere Krankheitserscheinungen zu zeigen.

Sehr bemerkenswert ist der Befund, daß bei Meerschweinchen, die mit stark abgeschwächten Tuberkelbacillen infiziert wurden, die Drüsen der Einspritzungsstelle und letztere selbst in 4 Fällen der Tabelle IX makroskopisch gar keine Veränderungen darboten. Daß die Eintrittsstelle der Tuberkelbacillen keine Veränderungen oder nur solche, die bei ganz genauer Untersuchung wahrzunehmen sind, aufzuweisen braucht, wird jetzt wohl allgemein angenommen. Anders dagegen wird das Verhalten der regionären Lymphdrüsen beurteilt. H. Ribbert spricht sich in seinem Referat über die Eingangspforten der Tuberkulose auf dem XIV. Internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie zu Berlin 1907 [1]) dahin aus, daß die regionären Lymphdrüsen nicht übersprungen werden. Bartel [2]) dagegen vertritt die Ansicht, daß die verschiedenen lymphatischen Apparate einen verschiedenen Grad von Filtrierfähigkeit besäßen und weiter, daß „eine manifeste Tuberkulose nicht immer an die regionären Lymphdrüsengruppen der Infektionsstelle gebunden sein muß". Man wird wohl Ribbert beipflichten müssen, daß die Lymphdrüsen selbst im ungünstigsten Falle nicht alle in sie gelangenden Bacillen durchströmen lassen, daß sie einen Teil zurückbehalten, aber Weichselbaum und Bartel [3]) zeigten, daß in Lymphdrüsen sich befindliche lebende Tuberkelbacillen eine Zeit lang gewissermaßen latent am Leben bleiben können, ohne daß sie spezifische Veränderungen hervorzurufen brauchen.

Unsere Tiere blieben nicht sehr lange in Beobachtung, nur 1 (No. 250) über 5 Wochen. Die Möglichkeit muß also zugegeben werden, daß bei längerem Leben die Drüsen der Injektionsstelle nachträglich noch hätten tuberkulös werden können. Jedenfalls aber hatten wir bei unseren Meerscheinchen ein Stadium, in welchem es nicht möglich gewesen wäre, durch Untersuchung der Lymphdrüsen die Eintrittspforte der Tuberkulose festzustellen. Vielleicht hängt der ganze Vorgang, daß die regionären Lymphdrüsen zunächst makroskopisch verschont blieben, damit zusammen, daß wir bei unserer in Betracht kommenden Versuchsreihe mit immerhin stark abgeschwächten Tuberkelbacillen arbeiteten.

An improved form of celloidin capsule.

[From the Pharmacological Laboratory, Cambridge, England.]

By **W. Henwood Harvey,** M.B. (Tor.),
British Medical Association Research Scholar.

Whilst engaged upon a special research, which necessitated the use of a large number of celloidin sacs, it was found necessary to modify, somewhat, the usual methods of making them. Before describing my method, I shall review briefly those already published.

Collodium sacs were first introduced into bacteriology by Metschnikoff, Roux, and Salimbeni (1896), during their research upon

1) Ribbert, H., Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 42.

2) Bartel, J., Die Infektionswege bei der Fütterungstuberkulose. (Wiener klin. Wochenschr. 1905. No. 7.)

3) Weichselbaum, A. und Bartel, J., Zur Frage der Latenz der Tuberkulose. (Wiener klin. Wochenschr. 1905. No. 10.)

the toxins and antitoxins of cholera. Oddly enough, they neglected to describe, when the work was published, their technique. It has, however, been since given by Novy (1898) in his bacteriological laboratory handbook. It consisted in repeatedly dipping a glass tube or rod into a small beaker containing collodium. When sufficiently coated, the tube was withdrawn and the collodium allowed to set. This was then circularly incised at the upper extremity and the uneven remnant was removed. The freshly cut edge was grasped with a pair of forceps, carefully folded back upon itself and drawn slowly downwards, causing a complete inversion of the collodium covering. The sac, thus obtained, was luted, by means of gentle heat, to another piece of glass tubing which had been slightly constricted a short distance from the end. The union of sac and glass was further reinforced by ligatures. After sterilization, the sac was closed by sealing off the glass tube as its constriction. Novy uses this method. In sacs of a large size, however, he introduces a support in the form of a multi-perforated glass tube.

Ruffer and Crendiropoulo (1900) and Eyre (1902) dipped test-tubes, of suitable size, into collodium and when sufficiently coated, separated the sac, when set, from the mould by dipping into water. The sacs were then attached to pieces of glass tubing by gentle heat and the unions were reinforced with collodium. Ruffer and Crendiropoulo suspended their sacs or bags, as they describe them, in large test-tubes in the incubator, but Eyre closed his by ligating the sac with thread immediately below the junction of sac and glass tube.

Prudden (about 1898) moulded sacs over a piece of glass tubing which had a small opening left in the extremity, through which, by forcing air, he endeavoured to separate the collodium layer from the glass support. His results were unsatisfactory. A like technique was subsequently followed by Gorsline (1902). But he forced water instead of air through the tube and succeeded in stripping off the capsule. He attached the sacs to other pieces of tubing, with the aid of heat, and finally closed by sealing the glass tubing in a flame.

Kellerman (1902) and Frost (1903) filled test-tubes to a desired depth with collodium and then poured out the excess. Upon drying, the lining detached itself from the tube and was then withdrawn. Closure was obtained by ligation.

Trudeau (1898?) was the first to employ gelatine capsules over which to form collodium sacs. As his results were so unsatisfactory, he did not publish his technique. McCrae (1901), however, followed up the method with success. His procedure consisted in fitting the body of an ordinary gelatine capsule (the cover being discarded) to a suitable piece of glass tubing which he, previously, had constricted near one end. The capsule and tube were then dipped into collodium and when sufficiently coated were allowed to dry. The gelatine was then melted by hot water and was either poured out or left inside as pabulum for bacteria. After sterilizing, etc., the capsule was closed by sealing off the glass tube at the point of constriction. This method, Harris (1902) has since modified. He utilizes the entire gelatine capsule: to one end (the cap) a piece of tubing is attached by slightly heating the latter and then bringing the two into contact. He immediately reinforces this union by painting it with collodium. After this has set, both parts are submerged in a collodium bath, withdrawn and allowed to dry. This step is repeated until a suitable thickness obtains, then the gelatine is melted

with hot water and is withdrawn by a Pasteur pipette. The sacs are closed by sealing off the glass tube.

The method I have employed is a modification of that of Harris. The material required is as follows:

Glass tubing, having an external diameter of 4 to 6 mm, cut into lengths of about 12 cm.

Empty gelatine capsules (Parke, Davis and Co., No. 000 being a suitable size).

Melted paraffin, contained in a specimen tube.

Celloidin solutions, 3 % and 9 % in similar tubes.

Chloroform, in large test-tube.

Wire hook, sufficiently narrow to pass through an opening having a diameter equal to the glass tubing.

Separate the cover and body of a gelatine capsule and through the bottom of the latter make a hole large enough to admit a piece of the glass tubing; this is readily done by heating a piece of tubing and then bringing it into contact with the base. This step must be executed rapidly, otherwise the opening will be too large. Reclose the capsule and pass another piece of tubing, only sufficiently warmed to render the gelatine tacky, through the opening until in contact with the cover, to the inside of which it will adhere. Now dip the capsule and as much of the tubing as desired, usually 3 cm, once into the specimen tube of paraffin, which has been kept liquid by means of a water-bath or an oven. This step must not be prolonged or the gelatine capsule will be softened. Upon withdrawing, the tube is gently rotated between the fingers until the paraffin has cooled — this prevents irregular thickening of the wall. Now dip, in a like manner, into the celloidin baths — twice into the three per cent solution and three or four times into the thicker — withdrawing and rotating slowly between dips until the celloidin sets. Care must be taken neither to shake the celloidin solutions, nor to enter nor withdraw the capsule too rapidly from them, in order to avoid the formation of air bubbles.

When the last layer has set, the entire structure is placed, in a test-tube containing chloroform. Thus the celloidin is hardened and toughened, and at the same time the paraffin is dissolved leaving the gelatine capsule free within the celloidin shell. The chloroform bath must be changed at least once to ensure complete removal of the paraffin. Now place the capsule in a bath of spirit for a few minutes, and then pass into a beaker containing water. In this bath the glass tube may readily be withdrawn as the gelatine swells and softens: by means of the wire hook, mentioned above, the latter may now be impaled and readily withdrawn through the celloidin neck. This leaves a finished transparent celloidin capsule, which may be immediately sterilized by filling with water and then placing in a vessel, containing water, in the autoclave for a short period. If such capsules are not wanted for immediate use, they may be stored conveniently in stoppered bottles or specimen tubes containing seventy per cent alcohol.

The capsules are closed, after filling or inoculating, by passing a small plug of aseptic (not antiseptic) wool down the neck as far as the capsule's shoulder, then by means of a heated spatula or scalpel a small quantity of melted paraffin is poured on top of the wool. The neck may now be trimmed to the level of the paraffin and with some sterilized absorbent cotton, soaked in absolute alcohol, the stump and shoulder

are wiped free of water, and are then painted over with celloidin. The capsule is thus effectually closed and scaled and is ready for immediate insertion in the abdominal cavity of the animal to be experimented upon.

For celloidin capsules made by this method, the following advantages are claimed: 1) strength, 2) maximum of dialysing surface, 3) no limitation of capacity (depending entirely upon size of gelatine capsule employed as the mould), 4) certainty of seal, 5) entire absence of glass, 6) total removal of gelatine mould and 7) variability of application.

Bibliography.

1) Eyre, J. W. H., Bacteriological technique. London 1902. p. 279.
2) Frost, W. D., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Originale. Bd. XXXIV. 1903. p. 733.
3) Gorsline, C. S., Science. 1902. p. 375.
4) Harris, N. Mac L., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Originale. Bd. XXXII. 1902. p. 74.
5) Kellerman, K., Journ. App. Micro. Vol. V. 1902. p. 2038.
6) McCrae, J., Journ. exper. Med. Vol. V. 1901. p. 635.
7) Metschnikoff, E., Roux, E., and Salimbeni, A. T., Annal. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896. p. 257.
8) Novy, F. G., Laboratory work in bacteriology. Ann Arbor 1899. p. 496.
9) Prudden, T. M. (Personal communication to Harris, q. v.)[1].
10) Ruffer, M. A., and Crendiropoulo, M., Brit. Med. Journ. 1900. Vol. II. p. 1305.
11) Trudeau, E. L. (Personal communication to Harris, q. v.)[1].

1) These references have not been personally confirmed.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Ueber die durch bestimmte anorganische Salze verursachten Degenerationsformen bestimmter Bakterienarten.

Von Dr. S. **Hata**, Abteilungsvorsteher im Kaiserl. japan. Institut für Infektionskrankheiten zu Tokio (Dir. Prof. Dr. S. Kitasato).

Mit 1 Tafel.

Bei den Untersuchungen über das biologische Verhalten der verschiedenen Salze zu den Bakterienarten fand ich zufällig, daß einige bestimmte anorganische Salze die spezifische Eigenschaft besitzen, bestimmte Bakterien zu einer charakteristischen Formveränderung zu veranlassen.

Daß Pestbacillen, auf Kochsalzagar gezüchtet, zu differentialdiagnostisch verwendbaren, hochgradigen Degenerationsformen sich umbilden, war vor langen Jahren von Dr. Hankin und Leumann bemerkt worden. Seitdem sind zahlreiche Arbeiten erschienen, welche sich mit den morphologischen und biologischen Veränderungen der verschiedenen Bakterien in oder auf verschiedenen salzreichen oder salzarmen Medien beschäftigen. Trotzdem interessierte mich mein Befund schon deshalb, weil bei diesen Formveränderungen ein elektiver Zusammenhang zwischen den Salzen und den Bakterienarten deutlich hervortritt. Außer diesem biologischen Interesse hat eine der Degenerationsformen auch praktischen Wert für die Differentialdiagnose.

1. Degenerationsformen der Dysenteriebacillen auf Chlorcalciumagar.

Gewöhnlichem Agar wurde eine Reihe von steigenden Mengen (0,5—1,0—2,0—3,0—4,0—5,0 Proz.) Chlorcalcium zugesetzt. Auf Reihen von so dargestelltem, schräg erstarrtem Chlorcalciumagar wurden 7 Dysenterie-, 5 Pest-, 3 Typhus-, 3 Coli- und 3 Cholera-Bakterienstämme geimpft. Darunter stellte sich nur bei den Dysenteriebacillen eine bemerkbare Degeneration ein. Schon auf 1-proz. $CaCl_2$-Agar war deutliche Verlängerung und Vergrößerung dieser Bakterienart bemerkbar. Bei 3—4-proz. Salzgehalt war diese Veränderung am charakteristischsten (Fig. No. II), und dabei bildeten sich alle 7 Stämme von Dysenteriebacillen zu schönen, großen Spindelformen um und ließen sich noch sehr gut färben. Ein dick mit dieser Kultur bestrichenes Präparat kann man seinem Aussehen nach mit dem Bilde eines Großspindelzellensarkoms vergleichen. Mit Kali-Methylenblau gefärbt, erscheint hier und da eine Anzahl metachromatischer Körnchen. Aber bei einem Salzgehalt von 5 Proz. war die Degeneration so weit vorgeschritten, daß der einzelne Bacillus in Trümmer zerfiel und kein schönes Bild mehr gab.

Dagegen bildeten andere Bakterienarten auf diesem Nährboden keine nennenswerten Degenerationsformen, welche mit denen der Dysenteriebacillen vergleichbar wären. Pestbacillen verloren die fadenziehende Kultureigenschaft von 2 Proz. $CaCl_2$ enthaltenden Nährböden an; dabei verlängerte und vergrößerte sich die Bacillenform ein wenig. Am 3. Tage zerfielen die Stäbchen zu Kügelchen und metachromatischen Körnchen. Typhusbacillen veränderten ihre Form am wenigsten, nur bei

5-proz. $CaCl_2$-Nährboden verlängerten sie sich mehr oder minder; Coli-Bacillen etwas mehr als Typhusbacillen, sie standen aber hinter den Dysenteriebacillen weit zurück. Choleravibrionen veränderten die Form zwar sehr wenig, bildeten aber außerordentlich viele metachromatische Körnchen.

Da $CaCl_2$-Agar Dysenteriebacillen allein zur charakteristischen Formveränderung veranlaßte, und zwar ein Salzgehalt des Agars von 4 Proz. sich dafür am geeignetsten erwies, so wurde 4-proz. $CaCl_2$-Agar mit 4,0—5,0—7,0-proz. Kochsalzagar verglichen. Bei diesem Versuche wurden 31 Dysenterie-, 3 Typhus-, 1 Paratyphus B-, 7 Coli-, 1 Mäusetyphus-, 4 Pest- und 2 Cholera-Bakterienstämme als Vergleichsmaterial benutzt.

Auf $CaCl_2$-Agar zeigten beinahe alle (29) von 31 Dysenteriestämmen die oben geschilderten spezifischen Degenerationsformen mehr oder minder deutlich. Als ich die einzelnen Stämme der Dysenteriebacillen miteinander verglich, konnte ich zwei Typen von Veränderungen unterscheiden. indem der eine häuptsächlich Verlängerung, der andere hauptsächlich Anschwellung zeigte. Infolgedessen bildete jener mehr lange Fäden, dieser mehr Kugel- oder Polygonalformen. In der zweiten Gruppe stand Shigas non-acidogener Dysenteriebacillus an der Spitze. Er bildete sehr oft große Kugelformen und zeigte hochgradige Degeneration des Bacillenkörpers (Fig. No. III). Obwohl sich zwischen einzelnen Stämmen kleine Verschiedenheiten bemerkbar machten, sind doch allen Stämmen die beiden Umgestaltungsformen, Verlängerung und Vergrößerung, gemeinsam. Daher tritt bei allen Dysenteriestämmen die eigentümliche Spindelform mehr oder minder deutlich hervor.

Auf Kochsalzagar zeigten die Dysenteriestämme deutliche Formveränderung, und zwar nur Fadenbildung mit eventuellen Verzweigungen, und da die Vergrößerung ganz leichtgradig war, so war keine evidente Spindelform anzutreffen (Fig. No. I).

Pestbacillen zeigten natürlich auf Kochsalzagar die eigentlichen Veränderungen, aber nicht auf Chlorcalciumagar. Typhus-, Paratyphus-, Mäusetyphusbacillen bildeten weder auf Kochsalz-, noch auf Chlorcalciumagar irgend eine besondere Form. Coli-Bacillen zeigten im allgemeinen stärkere Veränderung als Typhusbacillen, und 2 Stämme von den untersuchten 7 Coli-Arten bildeten auf $CaCl_2$-Agar und auch auf NaCl-Agar eine mit Dysenteriebacillen vergleichbare Degenerationsform (Fig. No. IV). Aus diesem Befunde ergibt sich, daß der Dysenteriebacillus in biologischer Hinsicht dem Coli-Bacillus näher steht als dem Typhusbacillus.

Die Verschiedenheit der Degenerationsformen einzelner Dysenteriestämme veranlaßte mich zu einer weiteren Untersuchung, um zu sehen, ob zwischen nahestehenden Metallsalzen eine elektive Beziehung zu den einzelnen Dysenteriestämmen besteht. Diesmal wurde Chlorbaryum in Mengen von 0,5—1,0—2,0—3,0—4,0—5,0 Proz. dem Agar zugesetzt. Alle Stämme der Dysenterie- und alle obengenannten anderen Bakterien zeigten aber keine nennenswerte Veränderung auf $BaCl_2$-Agar. Auch Calciumnitrat wurde zum Versuche herangezogen, aber gleichfalls ohne besonderen Erfolg.

2. Degenerationsformen der Pestbacillen auf Chlormagnesiumagar.

Auf Reihen von schräg erstarrtem Agar, welche 1,0—2,0—3,0—4,0—5,0—7,0 Proz. Chlormagnesium enthielten, wurden 10 Pest-, 5 Dysenterie-, 1 Hühnercholera-, 1 Cholera-, 2 Typhus-, 3 Coli-Bacillenstämme geimpft.

Hier zeigten nur Pestbacillen eine spezifische Formveränderung, und zwar bei einem Salzgehalt von 3 Proz. an. Bei diesem war am 2. Tage die Veränderung noch leicht, erst am 3. Tage deutlicher, am 4. Tage war die Degeneration aber zu hochgradig, und die Bacillen ließen sich nicht mehr gut färben. Bei 4 Proz. war am 2. Tage (Fig. No. VI) die Formveränderung am deutlichsten, aber schon am 3. Tage fielen die Bakterien der Zertrümmerung anheim. Bei mehr als 5 Proz. degenerierten sie von Anfang an so stark, daß kein gutes Präparat davon zu bekommen war. Die Degenerationsform der Pestbacillen auf $MgCl_2$-Agar gleicht ganz und gar der dieser Bacillen auf NaCl-Agar (vergl. Fig. V und VI) und zeigt ebenfalls metachromatische Körnchen. Aber auf $MgCl_2$-Agar tritt die Degeneration viel schneller und stärker auf als auf NaCl-Agar. Pestbacillen wachsen zwar sehr gut auf 4-proz. $MgCl_2$-Agar, aber schon am 3. Tage zerfallen sie meistenteils und eignen sich nicht mehr für die mikroskopische Beobachtung. Auf 4-proz. NaCl-Agar dagegen wachsen sie schwach, geben aber am 3. Tage noch ein sehr schönes, zuweilen schöneres mikroskopisches Bild (Fig. No. V) als am 2. Tage.

Auf $MgCl_2$-Agar zeigten die anderen Bakterien nur eine leichte Verlängerung oder Vergrößerung, aber keine besonderen Degenerationsformen.

Durch diesen Versuch war so viel sichergestellt, daß nur Pestbacillen auf $MgCl_2$-Agar eine spezifische Umgestaltung erfahren und daß eine 24-stündige Kultur bei 4-proz. Salzgehalt für die Beobachtung am geeignetsten ist.

Nun wurde 4-proz. $MgCl_2$-Agar mit 3,0—4,0—5,0-proz. NaCl-Agar verglichen. Dazu wurden wieder die obengenannten Bakterienarten der Beobachtung unterzogen. Es zeigten aber nur Pestbacillen auf den beiden Nährböden die eigentümliche Formveränderung, während Dysenteriebacillen nur auf NaCl-Agar eine nicht so charakteristische und auf $MgCl_2$-Agar keine oder nur ganz geringfügige Veränderungen zeigten. Bei anderen Bakterien ergab sich auf den beiden salzhaltigen Nährböden keine darstellbare Veränderung.

Es wurden noch Sulfat und Nitrat von Magnesium, aber ohne besonderen Vorteil, zum Versuche gebraucht.

Endlich wurden vergleichende Untersuchungen mit NaCl-, $CaCl_2$- und $MgCl_2$Agar, und zwar mit allen dreien in Mengen von 3,0—4,0—5,0—7,0 Proz., mehrmals wiederholt. Die Resultate dieser Versuche kann ich, wie folgt, zusammenfassen:

1) Der Dysenteriebacillus bildet auf $CaCl_2$-Agar immer evident charakteristische Spindel- oder Kugelform. Ein Salzgehalt von 4 Proz. ist dafür am geeignetsten. Auf NaCl-Agar zeigt er aber nur eine nicht spezifische, auf $MgCl_2$-Agar keine deutliche Formveränderung.

2) Der Pestbacillus bildet auf NaCl- und $MgCl_2$-Agar eine eigentümliche Degenerationsform. Bei beiden Nährböden ist ein Salzgehalt von 4 Proz. am besten. Auf $MgCl_2$-Agar wächst der Bacillus kräftiger, degeneriert aber schneller als auf NaCl-Agar.

3) Andere Bakterien zeigen immer viel geringere Formveränderung.

4) Zur Untersuchung der Degenerationsformen scheint Chlorsalz am geeignetsten zu sein; die Salze anderer Säuren, wie Nitrat und Sulfat, sind nicht brauchbar.

5) Die elektive Beziehung des Dysenteriebacillus zum Calciumsalz und die des Pestbacillus zum Magnesiumsalz ist sichergestellt und hat biologisches Interesse.

6) Die Degenerationsform des Dysenteriebacillus auf $CaCl_2$-Agar ist viel charakteristischer und praktisch vorteilhafter als die früher auf NaCl-Agar gebildete Form.

Erklärung der Tafel.

No. I. Degenerationsform eines acidogenen Dysenteriebacillus auf 4-proz NaCl-Agar.
No. II. Degenerationsform eines acidogenen Dysenteriebacillus auf 4-proz. $CaCl_2$-Agar.
No. III. Degenerationsform von Shigas Dysenteriebacillus auf demselben Nährboden.
No. IV. Degenerationsform eines Coli-Bacillus auf demselben Nährboden.
No. V. Degenerationsform eines Pestbacillus auf 4-proz. NaCl-Agar.
No. VI. Degenerationsform eines Pestbacillus auf 4-proz. $MgCl_2$-Agar.

Ein Fall von Diphtheriebacillenseptikämie.

[Aus dem Laboratorium des Deutschen Alexanderhospitals für Männer in St. Petersburg.]

Von Dr. med. **A. Ucke**, Prosektor des Hospitals.

Am 17. April v. J. übergab mir Dr. A. Truhart, Assistent der chirurgischen Abteilung des Hospitals, eine Anzahl Reagenzröhrchen mit Bouillon und schräg erstarrtem Agar, die er tags zuvor mit durch Venaepunktion gewonnenem Blut beschickt hatte. Das Blut stammte von einem Kranken, der vor wenigen Tagen mit den Anzeichen einer septikämischen Erkrankung ins Hospital eingetreten war.

Nähere Daten aus der Krankengeschichte, die mir in liebenswürdigster Weise von Herrn Kollegen Truhart zur Verfügung gestellt worden ist, werde ich im weiteren geben; vorher aber möchte ich auf das Resultat der bakteriologischen Untersuchung eingehen, da aus ihr das Interesse des Falles hervorgeht: Es ließ sich nämlich nach 48 Stunden Aufenthalt im Thermostaten bei 37° C nur in einem Röhrchen mit Agar eine kleine Kolonie wahrnehmen, die sich bei der mikroskopischen Untersuchung als aus charakteristischen Diphtheriebacillen bestehend erwies. Da eine Verunreinigung außerhalb des Bereichs der Wahrscheinlichkeit liegt und außer dieser Kolonie auch weiterhin keinerlei Entwickelung in den Kulturröhrchen zustande kam, so ist wohl der Schluß berechtigt, daß im gegebenen Fall Diphtheriebacillen im Blut gekreist haben.

Der Krankengeschichte entnehmen wir, daß Pat. am 13. April ins Alexanderhospital eintrat, nachdem er bereits 2 Wochen hoch gefiebert und stark abgenommen hatte. Obgleich er anfangs keine besonderen Schmerzen empfunden hatte, trat in den letzten Tagen eine stärkere Schwellung und Druckempfindlichkeit in der rechten Glutäalgegend auf. Kurz vorher hatte er eine Angina mit Belägen durchgemacht, von diesen Belägen war mir Material zur Diphtheriediagnose eingesandt worden. Darin fand ich wenige Häufchen zerstreut liegender, kolbenförmiger Bacillen, die ich nicht umhin konnte, für Diphtheriebacillen anzusprechen. Außerdem hatte sich Pat. eine Hautabschürfung am rechten Fuß zugezogen.

B. v. P., 27 Jahre alt, groß von Wuchs, kräftig gebaut und gut genährt, von seiten des Herzens nichts Besonderes, nur sind die Töne

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

nicht ganz rein. Puls 104. Lunge ohne Besonderheiten. Leber und Milz kaum vergrößert. Urin sauer, kein Zucker, Albumen Spuren, mikroskopisch einzelne hyaline Cylinder, weiße und rote Blutkörperchen. Rechte Glutäalgegend stark vergrößert und entzündlich gerötet; keine Fluktuation. Zunge himbeerfarben, nicht trocken.

Am 14. April unter Aether ein Schnitt bis auf das Os ilei: Außer leichter Durchtränkung des Gewebes kein Befund.

Im weiteren Verlauf treten vage Schmerzen in den Metacarpophalangealgelenken, sowie in den Ellenbogengelenken auf, die jedoch bald wieder verschwinden. Am 18. April wird nochmals Blut aus der Vene entnommen und auf verschiedene Nährböden ausgesät, doch mit negativem Resultat. Am 19. April werden 3000 IE. Diphtherieheilserum subkutan injiziert, doch ohne eklatanten Erfolg.

Am 20. April beim Tamponwechsel sieht man im Grunde der Wunde eine kleine Fistelöffnung, aus der bei Druck Eiter hervorquillt; derselbe enthält mikroskopisch massenhaft Streptokokken und Staphylokokken, kulturell aber lassen sich außer Strepto- und Staphylokokken auch reichlich Diphtheriebacillen nachweisen. Bei stumpfer Eröffnung findet sich ein großer Eiterherd und zwischen Glutaeus max. und med. wird ein Tampon eingeführt. In den nächsten Tagen tritt Temperaturerniedrigung ein, während die Wunde stark eitrig sezerniert, lassen die Schmerzen nach und allmählich tritt Besserung des Allgemeinbefindens und vollständige Genesung ein.

Herr S. N. Predtetschenski vom Kais. Institut für Experimentalmedizin hat die Liebenswürdigkeit gehabt, die Kultur von Diphtheriebacillen aus dem Blut auf ihre Toxizität hin zu prüfen. Er bestätigte mir, daß es echte Diphtheriebacillen sind, doch fand er die Toxizität bedeutend herabgesetzt. 1 ccm Bouillonkultur gab bei einem Meerschweinchen von 260 g Gewicht ein Infiltrat, führte aber nicht zum Tode; 1 ccm Toxin mit $^1/_2$ ccm Serum von 300 IE. blieb bei einem Meerschweinchen von 240 g ohne Resultat.

Die Diphtheriebacillen aus dem Eiter in Reinkultur zu züchten, ist ihm ebensowenig wie mir gelungen; daher mußte die Toxizitätsprüfung an diesem Stamm unterbleiben. Für die ausgeführten Untersuchungen möchte ich auch an dieser Stelle Herrn S. N. Predtetschenski meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Ueber den pathologischen Vorgang bei der Diphtherie war seit Loeffler die Auffassung vorherrschend, daß die Bacillen sich auf der Schleimhaut lokalisieren und nicht tiefer ins Gewebe und die inneren Organe eindringen. Dagegen ist nun vielfach Einspruch erhoben worden, zumal schon Loeffler in seiner ersten Mitteilung (1) in einzelnen Fällen die Klebsschen Bacillen, wie er sie da nennt, in der Leber nachgewiesen hatte. Seitdem haben verschiedene Autoren in einer Reihe von Fällen gleiche Befunde erhoben, so Babes (2) und Kolisko und Paltauf (3) 1899 in der Milz, Frosch (4) 1893 in Gehirn, Leber, Milz, Nieren, Herzblut, Cervikal- und Bronchialdrüsen, Kutscher (5) 1894 in der Leber und Niere, Bulloch und Schmorl (6) 1894 in Lymphdrüsen und Kanthak und Stephens (7) 1896 in der Milz.

In dieser Aufzählung der Befunde von Diphtheriebacillen in inneren Organen habe ich absichtlich die Fälle weggelassen, wo sie in den Lungen gefunden wurden, weil sie hierher auf dem direkten Wege durch Kehlkopf, Trachea und Bronchien, ganz ohne Vermittelung der Lymph- und Blutbahn, gelangt sein können.

Bulloch und Schmorl (l. c.) sagen in einer Fußnote zu ihrem Aufsatze: „Wir möchten hier der Vermutung Raum geben, daß trotz der von Frosch und uns erhobenen Befunde die von Loeffler vertretene und bisher allgemein als gültig angenommene Anschauung, daß die Diphtheriebacillen nur auf der erkrankten Schleimhaut vegetieren und nicht in tiefere Gewebe eindringen, bei einem durch operativen Eingriff nicht beeinflußten Krankheitsverlauf zu Recht besteht."

Wenn die Autoren einerseits die Befunde von Diphtheriebacillen in inneren Organen besonders hervorheben und betonen, schreiben sie ihnen andererseits fast übereinstimmend keine Bedeutung für den pathologischen Prozeß bei und geben keine lokalen Veränderungen der Organe an, die auf die Anwesenheit der Bacillen zurückzuführen wären. Damit ist aber eigentlich die Bedeutung dieser Erhebungen auf ein Minimum reduziert, zumal sie sämtlich, soweit ich die Literatur übersehe, an Leichenmaterial gewonnen sind. Daher erlangt aber gerade mein Fall sein Interesse, weil die Diphtheriebacillen hier am Lebenden aus Venenblut erhalten wurden, wobei keine Verletzung an der Lokalisationsstelle (Rachen) vorherging, nachher aber sich im Glutäalabsceß gemeinschaftlich mit den Strepto- und Staphylokokken lokalisierten. Es ist hervorzuheben, daß aus dieser Beobachtung hervorgeht, wie wenig bösartig sie beim Eindringen in das Gewebe und Blut sind.

Nachtrag bei der Korrektur. Während die vorliegenden Zeilen bereits im Druck sich befanden, erschien in No. 47 der Berl. klin. Wochenschr. vom Jahre 1907 ein Aufsatz von P. Mahler: „Ueber einen Fall von Diphtheriebacillen- und Streptokokkensepsis", in welchem ein dem meinen ähnlicher Fall beschrieben wird und drei gleiche Fälle aus der Literatur erwähnt werden, die mir entgangen waren. Somit reiht sich mein Fall den eben angeführten an und gehört fraglos zu den Seltenheiten.

St. Petersburg, 10. Februar 1908.

Literatur.

1) Loeffler, Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe. (Mitteil. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. II. 1884.)
2) Babes, Bakteriologische Untersuchungen über septische Prozesse. Leipzig 1889. (Zit. nach Frosch.)
3) Kolisko und Paltauf, Wien. klin. Wochenschr. 1889. No. 8.
4) Frosch, Die Verbreitung der Diphtheriebacillen im Körper des Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893.)
5) Kutscher, Der Nachweis der Diphtheriebacillen in den Lungen mehrerer an Diphtherie verstorbener Kinder durch gefärbte Schnittpräparate. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XVIII. 1894.)
6) Bulloch und Schmorl, Ueber Lymphdrüsenerkrankungen bei epidemischer Diphtherie. (Zieglers Beiträge z. path. Anat. u. allgem. Pathol. Bd. XVI. 1994. Heft 2.)
7) Kanthak und Stephens, Bericht über die Sitzungen der Pathological Society London vom 21. Jan. 1896. (Münch. med. Wochenschr. 1896. No. 6.)

Erfahrungen bei der bakteriologischen Untersuchung meningitisverdächtigen Materials.

[Aus dem hygienischen Institut in Kiel (Geheimrat B. Fischer).]

Von **Karl Stoevesandt,**

Assistenten am Untersuchungsamte für ansteckende Krankheiten.

Mit 6 Figuren.

Im Jahre 1896 hat Kister im hiesigen Institute 2 Fälle von Meningitis epidemica genauer untersucht. Er fand dabei mikroskopisch und durch Züchtung Diplokokken, bei denen er die Beobachtungen Jägers aus dem Jahre 1895 (Färbung nach Gram, Wachstum auf gewöhnlichem Agar, gute Fortzüchtbarkeit, gelegentliche Kettenbildung) nicht bestätigen konnte, die sich vielmehr in allen wesentlichen Punkten so verhielten, wie der von Weichselbaum zuerst beschriebene Diplococcus intracellularis meningitidis. Ebenso wurde nach Ausweis der Bücher des Untersuchungsamtes des hygienischen Institutes 1905 und 1906 in je 7 Fällen derselbe intracelluläre gramnegative Diplococcus aus Cerebrospinalflüssigkeit und einmal auch aus Meningealeiter bei einer Sektion isoliert.

Wie die Tabelle I zeigt, ging dem Institut im Jahre 1907 weit mehr meningitisverdächtiges Material zu, so daß ich bis zum 1. Oktober 153 derartige Proben untersuchte, bei denen 27mal Meningokokken gezüchtet werden konnten. Die meisten Proben wurden im März, April und Mai eingesandt, wo im Kreise Pinneberg und in Kiel die Genickstarre etwas häufiger auftrat. In der Tabelle I sind daher die Punktionsflüssigkeiten, die vom 1. März bis Mitte Mai fast durchweg aus dem Kreise Pinneberg und der Stadt Kiel eingegangen waren, von den späteren aus den verschiedensten Teilen der Provinz eingesandten getrennt aufgeführt. Während von den 39 ersteren bei 21 der Weichselbaumsche Meningococcus gefunden wurde, gelang dies bei den letzteren 25 nur 3mal. Schon weil diese 25 Proben meist völlig klar waren, ist anzunehmen, daß es sich hier oft um andersartige, vielleicht tuberkulöse Meningitis handelte. Es ist darum die geringe Zahl der Meningokokkenbefunde bei diesen nicht auffällig.

Tabelle I.

		Eingeliefert	Meningokokken gefunden
Punktionsflüssigkeiten	1. III. bis 15. V.	39	21
	16. V. bis 1. X.	25	3
Leichenmaterial		5	2
Nasenrachenschleim	Kranker	40	1
	Gesunder	40	0
Blutproben		7	—

Gang der Untersuchung.

Punktionsflüssigkeiten. Wir erhielten diese in den 5—6 ccm fassenden, mit paraffinierten Korken verschlossenen Blutröhrchen des Untersuchungsamtes und hatten daher immer genügende Mengen Flüssig-

keit. Bei mikroskopischer Untersuchung stand die Zahl der Meningokokken häufig in gar keinem Verhältnis zur Menge des Eiters: auch in sehr trüben Flüssigkeiten mußte manchmal recht lange nach einem einwandfreien Diplococcus gesucht werden. Immer lagen die meisten Kokken intracellulär; waren sie in größerer Zahl vorhanden, so lagen manche auch außerhalb der Zellen. Mehr als 1—2 Paare wurden nur ausnahmsweise in einem Leukocyten gefunden. Kapselbildung oder eine sicher intranukleäre Lagerung wurden nicht beobachtet. Behufs Gram-Färbung wurden die Ausstriche 3 Minuten mit Karbolgentianaviolett (10 Teile konzentrierter Lösung von Gentianaviolett in 100 Teilen $2^1/_2$-proz. Karbolsäure) und 2 Minuten mit Jodjodkalium (1 Teil Jod, 2 Teilen Jodkalium, 300 Teilen Aqua dest.) behandelt, sodann 20 bis 30 Sekunden mit absolutem Alkohol entfärbt und mit Karbolfuchsin (1 : 20) einige Sekunden nachgefärbt. Bei diesem Verfahren nahmen die Kokken regelmäßig die Kontrastfarbe an.

Je nach dem mikroskopischen Bilde wurden verschieden große Mengen, wenige Eiterflöckchen bis 1 ccm, auf Platten ausgesät. Als Nährboden wurde dem Loefflerschen Serum, wie es auch Ditthorn und Gildemeister empfehlen, aus praktischen Gründen der Vorzug gegeben: die Diagnose auf dem durchsichtigen Ascitesagar ist entschieden etwas leichter, aber das Serum ist dort, wo viel Diphtherie untersucht wird, jederzeit frisch vorrätig, und da es ja meist sporadische Fälle sind, wo man auf die Untersuchung nicht vorbereitet ist, so werden durch Aussaat auf dem Loefflerschen Nährboden Verzögerungen vermieden. Um aber auch den Ascitesagar rasch herstellen zu können, so wurde inaktivierte Ascitesflüssigkeit zu 5 ccm in Röhrchen vorrätig gehalten und ebenso je 10 ccm 3-proz. schwach alkalischen Agars. Bei 50° wurde dann der flüssige Agar mit dem Ascites vermischt und in eine Schale gegossen. Die Meningokokken schienen bei der ersten Aussaat auf Ascitesagar nicht rascher und reichlicher zu wachsen als auf Loeffler-Serum. Meist wurde so auf Loeffler-Serum und Ascitesagar ausgesät. Die Auffindung der Meningokokken gelang innerhalb 24 Stunden; ein späteres Erscheinen von neuen Meningokokkenkolonieen wurde nicht beobachtet, obwohl die Schalen immer 48 Stunden bei 36° blieben. Auf beiden Nährböden ist das Wachstum das schon oft beschriebene, recht charakteristische: die flachen, gelblichen Kolonieen auf Loeffler-Serum und die durchscheinenden, bei schwacher Vergrößerung etwas bräunlichen Kolonieen auf Ascitesagar sind nicht leicht zu verkennen, zumal da sie ja meistens annähernd in Reinkultur vorhanden sind.

Versprach die Kultur wegen Fehlens oder sehr geringer Zahl der Kokken im direkten Ausstriche kein ganz sicheres Resultat, so wurde auch der Rest der Flüssigkeit selbst in den Brutschrank gestellt, um am nächsten Tage eine neue Aussaat vornehmen zu können. Diese Anreicherung schließt allerdings die Gefahr ein, daß zufällig in die Flüssigkeit geratene Keime die etwa vorhandenen Erreger überwuchern.

Zur direkten Aussaat wurde neben den erwähnten Nährböden gelegentlich noch Ziegenblutagar (1 : 10) verwandt, auf dem die Meningokokken auch gedeihen; indes sind die Kolonieen klein, grauweißlich, wenig charakteristisch. Milchagar (1 : 3) hat sich als ebensowenig brauchbar erwiesen wie gewöhnlicher Agar.

Das mikroskopische Bild der Kokken aus den Kulturen stimmte stets mit den Beschreibungen von Weichselbaum, Albrecht und

Ghon, v. Lingelsheim, Schottmüller und vielen Anderen durchaus überein: Semmelformen von etwas ungleicher Größe, Tetraden, niemals Ketten und schon in 24-stündigen Kulturen viele kreisrunde, sich schwach färbende Individuen. Auch hier waren die Meningokokken gramnegativ, allerdings kam es wenige Male vor, daß in 2—3 Tage alten Kulturen ein einzelner Diplococcus, der sehr groß war (Involutionsform?), eine dunkelviolette Farbe beibehielt.

Es erhebt sich nun die für die Praxis wichtige Frage, wann die Diagnose „Meningokokken" dem behandelnden Arzt mitgeteilt werden darf. Das kann auf Grund der direkten Ausstriche gewiß nur dann geschehen, wenn die Anzahl der Kokken groß genug ist, um Form, Lagerung und Färbung mit voller Sicherheit feststellen zu können. Sind nur wenige zu finden, so sind Irrtümer möglich, besonders wegen des nach v. Lingelsheim nicht seltenen Vorkommens des Diplococcus crassus. Es muß dann das Kulturergebnis abgewartet werden. v. Lingelsheim hat (p. 392) eine Zusammenstellung der überhaupt von ihm in Cerebrospinalflüssigkeiten beobachteten Mikroorganismen gegeben, und es ergibt sich daraus für praktische Zwecke, daß der Meningococcus der einzige Keim im Liquor cerebrospinalis ist, der auf Loeffler-Serum und Ascitesagar das beschriebene Wachstum und zugleich das typische mikroskopische Aussehen hat. Es ist sonach die Agglutinationsprobe bei diesen Untersuchungen nicht mehr unbedingt nötig, trotzdem wurde sie im hiesigen Untersuchungsamt zur Kontrolle stets mit herangezogen, ebenso wie das Wachstum auf den gewöhnlichen Nährböden. Meist wurde daher von der Originalplatte zur Agglutination auf Ascitesagar einerseits abgeimpft, andererseits auf Gelatine und gewöhnlichen Agar, weil auch in der 2. Generation Meningokokken auf Gelatine gar kein, auf Agar höchstens ganz minimales Wachstum ergeben. Gerade der Diplococcus crassus, der am häufigsten Irrtümer veranlassen könnte, ist durch sein üppiges Wachstum auf diesen Nährböden am 2. Tage mit Sicherheit zu erkennen.

Die Leichenteile wurden ebenso untersucht wie die Punktionsflüssigkeiten; wie die Tabelle I zeigt, wurden unter 5 Untersuchungen 2mal Meningokokken gefunden. Einmal gelang es, dabei eine Mischinfektion mit Streptokokken festzustellen, nachdem intra vitam bei zweimaliger Untersuchung nur einmal ganz vereinzelt Streptokokken neben reichlichen Meningokokken gefunden worden waren; es war damals unentschieden geblieben, ob es sich nicht um eine Verunreinigung gehandelt hatte. — Bei 2 anderen Fällen zeigten die Meningen keinerlei Entzündung, bei dem 3. wurde der Streptococcus mucosus in Reinkultur gezüchtet. Die Meningitis war hier von einer Otitis media ausgegangen.

Nasenrachenschleim. Bei der Untersuchung des Nasenrachenschleimes begegnet man ja großen Schwierigkeiten, und meine Ergebnisse sind nicht gerade ermutigend. Die Vorbedingungen, die am ehesten einen positiven Befund ermöglichen, hat v. Lingelsheim in der oberschlesischen Epidemie 1904—1905 zum erstenmal klargestellt, und seine Erfahrungen sind besonders von Ditthorn und Gildemeister, auch von Flügge und Wollenweber bestätigt worden. Diese Bedingungen waren zumeist bei den Proben, die dem Kieler Untersuchungsamt zugingen, nicht erfüllt; es sind hauptsächlich folgende: 1) Richtige Entnahme des Schleimes aus dem Cavum pharyngis mit gekrümmter Sonde, die durch den Mund eingeführt wird; 2) sofortige Aussaat, ehe die Me-

ningokokken am Tupfer angetrocknet sind; 3) Untersuchung womöglich in den ersten 5 Tagen der Krankheit. — Wie weit die erste Bedingung seitens der Aerzte erfüllt worden ist, kann ja nicht beurteilt werden. Nur die aus Elmshorn, dem Ort der kleinen Epidemie, eingesandten Röhrchen enthielten meist eine umgebogene Sonde, auch war auf Veranlassung des Kreisarztes etwas Wasser (allerdings oft etwas reichlich), um Austrocknung zu verhindern, in das Röhrchen gebracht. Die Bedingungen wären also speziell bei diesem Material ziemlich günstig gewesen, wenn nicht die Untersuchung meist erst 12—16 Stunden nach der Entnahme begonnen worden wäre. Aus der Stadt Kiel erhielten wir nur 4mal Pharynxsekret, 3mal von Gesunden, 1mal von einem Kranken, bei dem auch in der Cerebrospinalflüssigkeit trotz zweimaliger Untersuchung keine Meningokokken gefunden wurden. Wir haben also dem Material, das v. Lingelsheim aus dem Beuthener Krankenhause erhielt, nichts an die Seite zu stellen. Im Gegenteil, sehr wesentlich ist zur Erklärung unserer vielen negativen Befunde der Umstand, daß das Untersuchungsamt in klinisch sicheren Fällen von Meningitis fast regelmäßig nur Cerebrospinalflüssigkeit erhielt, daß dagegen bei mehr oder minder unbestimmtem Verdacht auf Genickstarre die Lumbalpunktion unterlassen wurde und statt dessen die Einlieferung von Rachenschleim, der ohne Umstände zu entnehmen ist, für genügend erachtet wurde. Wenn daraufhin die 40 von Kranken stammenden Proben von Nasenrachenschleim (s. Tab. I) gesichtet werden, so bleiben nur 4 Fälle übrig, bei denen in der Cerebrospinalflüssigkeit Meningokokken nachgewiesen werden konnten, unter diesen 4 der eine, bei dem die sichere Feststellung von Meningokokken im Rachenschleim gelang. Vielleicht war auch die anfangs geübte Untersuchungsweise nicht ganz ausreichend, da in den Monaten März bis Mai meist nur eine Loeffler-Platte angelegt wurde. Sie ergab bei geeignetem Ausstreichen oft genug Einzelkolonieen, doch ist die Aussicht, Meningokokken zu finden, natürlich größer bei möglichst reichlicher Aussaat. In letzter Zeit verfuhr ich wie v. Lingelsheim: Aufweichen des Wattetupfers in etwas Bouillon, die auf die 1. Platte gegossen wird, von dieser Verdünnungen auf zwei weitere Platten mittels des Glasspatels. Es ist so in der Tat nicht schwer, verdächtige Kolonieen herauszufinden und zur genaueren Prüfung zu isolieren. Denn es gibt nach der Zusammenstellung von v. Lingelsheim eine ganze Reihe gramnegativer Diplokokken im Pharynxsekret, die teilweise auf Ascitesagar ein den Meningokokken sehr ähnliches Wachstum zeigen. Besonders sind die Kolonieen des Micrococcus catarrhalis nicht von denen des Meningococcus zu unterscheiden. Im Gegensatz zu den Punktionsflüssigkeiten ist also bei der Untersuchung von Nasenrachenschleim die Agglutinationsprobe nicht zu entbehren. In vielen Fällen erledigt sie sich allerdings von selber dadurch, daß die fraglichen Kokken auf keine Weise gleichmäßig aufschwemmbar sind, sondern von vornherein Agglutination vortäuschen. Anfangs blieb in solchen Fällen die Diagnose unsicher, bis es sich allmählich zeigte, daß diese schlechte Verreibbarkeit bei den aus Spinalflüssigkeit gezüchteten echten Meningokokken nicht vorkam. Wie auch Wollenweber hervorhebt, ist diese eigentümliche Konsistenz der Kolonieen des Micrococcus catarrhalis — denn um diesen handelt es sich wohl meistens — oft schon auf der Originalplatte zu konstatieren, indem die Kolonie sich im ganzen verschieben läßt und im Wassertröpfchen auf dem Objektträger nur schlecht auszubreiten ist. Da aber auch die

Agglutination echter Meningokokken nicht immer sogleich einwandfrei gelingt, so kostet die Prüfung verdächtiger Kolonieen aus Rachenschleim auf den verschiedenen Zucker- und den anderen Nährböden viel Mühe; und es kann daher nicht genug betont werden, daß für die Zwecke der Praxis, auch wo die Umstände für die Verarbeitung von Rachenschleimproben sehr günstig liegen, die Einsendung von Punktionsflüssigkeiten die wichtigste Maßnahme bei der Diagnose der epidemischen Genickstarre bleibt.

Blutproben. Ein noch viel weniger sicheres Ergebnis scheint einstweilen die Agglutinationsprüfung der Krankensera mit Meningokokken zu liefern. Wir erhielten 7 Blutproben, die allerdings unseres Wissens nie von klinisch sicheren Fällen von Meningitis stammten. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Krankenserum (Buchnummer)	1:10	1:20	1:30	1:50	1:100	1:200	Kontrolle in NaCl	Meningokokkenstamm (Buchnummer)
1011	+						+0	973
1333	+	+	+	+	0	0	0	1270
1416	0	0	0	0	0		0	843
1617	+		+	0	0		0	1413
1696			0	0	0		0	1647
2152		+	+	0	0		0	?
2637	0		0	0	0		0	1413

Ich verfuhr so, daß ich von jeder Serumverdünnung 1 ccm in ein Reagenzglas mit rundem Boden brachte und nun eine volle Oese der Meningokokkenkultur auf schrägem Ascitesagar darin verrieb. Wenn nach 24 Stunden bei 36° deutlich makroskopisch sichtbare Flöckchen entstanden waren, wurde die Agglutination als positiv verzeichnet. v. Lingelsheim agglutinierte im Spitzglas und verlangt völlige Klärung der Flüssigkeit. Allerdings verwendet er Aufschwemmungen, die durch Erwärmen auf 50—70° „rund 5mal leichter agglutinabel gegenüber Tierserum sind als frische Stämme". So ist vielleicht seine anscheinend vollständigere Reaktion doch mit der in Tabelle II, wo bloße Häufchenbildung für genügend erachtet wurde, ungefähr gleichzusetzen. Da er nun bei kompletter Agglutination in Verdünnung 1 : 25, bei inkompletter in 1 : 50 die Diagnose auf Meningitis stellt, so wäre der Fall 1333 der Tabelle sicher, 1617 und 2152 wahrscheinlich als solche anzusehen. Um nun aber die erhaltenen Agglutinationswerte besser beurteilen zu können, wurden 29 dem Untersuchungsamte wegen Typhusverdachts eingeschickte Sera, die also Meningokokken gegenüber wohl als Normalsera bezeichnet werden können, mit diesen zur Agglutination angesetzt. Es ergab sich folgendes: 20 Sera agglutinierten Meningokokken in der Verdünnung 1 : 10 nicht; positiv war die Agglutination in 4 Fällen in 1 : 10, bei 3 Fällen in 1 : 20, bei je 1 Fall in 1 : 30 und 1 : 100. Das hier geübte Verfahren berechtigt also, wie die Kontrolluntersuchungen zeigen, keinesfalls dazu, in einem der Fälle der Tabelle II eine positive Diagnose zu melden, und es erscheint notwendig, ausgedehntere Beobachtungen an Normalseren zu machen, bevor auf so niedrige Agglutinationswerte bei Kranken großer Wert gelegt werden darf.

Eigenschaften der gefundenen Meningokokken.

Die Fortzüchtung der Meningokokken zum weiteren Studium geschah auf schräg erstarrtem Ascitesagar oder auch auf Ziegenserumagar (2 Teile

Agar, 1 Teil Serum). Um Austrocknung möglichst zu vermeiden, wurden die Röhrchen verschlossen durch Eintauchen der Wattepfröpfe in flüssig gemachtes Paraffin nach Reiner Müller (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 519). Die Uebertragung geschah jeden 2. oder 3. Tag. Schon am 4. Tage muß erheblich viel mehr Kulturmasse ausgestrichen werden, weil sonst leicht das Wachstum ausbleibt. Vom 5. Tage an ist auf Lebensfähigkeit nicht mehr mit Sicherheit zu rechnen, nur einzelne Stämme sind einmal noch am 10. Tage wieder gewachsen; es handelte sich jedoch keineswegs um überhaupt resistentere Stämme, da sie bei späteren Versuchen schon etwas früher eingingen. Von den meisten Untersuchern (Kolle und Wassermann, Faber, Albrecht und Ghon u. A.) wird zum Uebertragen in kurzen Zwischenräumen nicht nur in den ersten Generationen ermahnt. v. Lingelsheim hat einige Stämme, die sich an Agar gewöhnt hatten, bis zu 14 Tagen lebensfähig erhalten. Systematisch wurde diese Gewöhnung von mir nur bei 4 Stämmen versucht, indem anfangs täglich überimpft wurde und erst allmählich seltener. Obwohl das anfängliche Wachstum auf dem Agar nur sehr kümmerlich war (wenige Kolonieen oberhalb des Kondenswassers), wuchsen sie in den folgenden Generationen etwas üppiger. Dennoch blieb bei dreien dieser Stämme trotz Ueberimpfung in Zwischenräumen von 2—3 Tagen das Wachstum nach einiger Zeit aus. Da außerdem der Impfstrich fast nie so dick wurde wie auf eiweißhaltigen Nährböden, so wurden diese letzteren beibehalten [1]). Kaum besser als gewöhnlicher Agar war Agar mit 1 Proz. Traubenzucker oder 5 Proz. Glycerin. Die Beobachtung von Kolle und Wassermann, daß bei Wechsel des Nährbodens, z. B. von Ascitesagar auf Serumagar, das erstmalige Wachstum Schwierigkeiten bietet, konnte wiederholt bestätigt werden. In Milch, die unverändert blieb, lebten bei einem Versuch die Keime noch nach 5 Tagen. Durch Antrocknung an Seidenfäden nach der Vorschrift Heims (Lehrb. d. Bakt. 3. Aufl. 1906. p. 285), eine Konservierung lebensfähiger Meningokokken zu erreichen, gelang nicht. Bei 2 Stämmen war trotz Ueberimpfung in 2tägigen Intervallen Fortzüchtung über die 3. Generation hinaus nicht möglich.

Es wurden auf diese Weise 19 Stämme kürzere oder längere Zeit, bis jetzt bis zu 5 Monaten, fortgezüchtet. Auch an diesem Material hat sich im Gegensatz zu den ehemaligen Angaben von Jäger, Heubner, Sorgente, Lepierre die völlige Konstanz des einzelnen Meningokokkenstammes erwiesen. Da man fortwährend mit Nährböden zu tun hat, die nicht durch Hitze zu sterilisieren sind, so ist es allerdings keine Seltenheit, daß sich in den Röhrchen, besonders im Kondenswasser, andere Keime entwickeln, gelegentlich auch grampositive Kokken, die dann rasch die Meningokokken überwuchern. Wenn man nicht regelmäßig die Kulturen auf solche Verunreinigungen durchmustert, kann man allerdings leicht „Umwandlungen in andere Typen“ erleben. Solche als Abkömmlinge der Meningokokken zu bezeichnen, hat bei unserem Material nie ein zwingender Grund vorgelegen.

Sieben 3 Wochen bei 22° gehaltene Gelatineröhrchen mit verschiedenen Meningokokkenstämmen ergaben kein Wachstum.

Bei wiederholten Versuchen wurde auffallenderweise trotz tunlichster Vermeidung von Erschütterungen die von Albrecht und Ghon,

---

1) An dem etwas kostbaren Material kann man erheblich sparen, wenn man, wie mir Herr Dr. R. Müller riet, gewöhnlichen schräg erstarrten Agar mit einer dünnen Schicht Ascitesagar übergießt.

Kister, Manteufel, Bettencourt und França beschriebene Trübung und Kahmhautbildung in Bouillon-Röhrchen nicht beobachtet. Wohl aber vermehrte sich einer der in Bouillon nicht gewachsenen Stämme in flacher Schicht von Ascitesbouillon im Erlenmeyer-Kolben deutlich. Daß die entstandene Trübung nicht durch eine Verunreinigung bedingt war, bewies die auf Ascitesagar daraus erzielte Reinkultur.

Wurden Meningokokken in Röhrchen mit Traubenzuckeragar verimpft und für gründliche Verteilung Sorge getragen, so trat nur an der Oberfläche Wachstum auf.

Ein Versuch, die Wachstumsenergie der Meningokokken durch Symbiose mit anderen Mikroorganismen zu fördern, schlug fehl: die Meningokokken wurden in reichlicher Menge in verflüssigtem Traubenzuckeragar verteilt, der Agar in eine große Schale ausgegossen und nun 40 verschiedene, ganz beliebige Hefen, Kokken, Stäbchen, Vibrionen aus der Sammlung des Instituts in je einem kurzen Impfstrich auf die Oberfläche des erstarrten Agars gebracht. Es zeigte sich dabei nur, daß in der nächsten Umgebung des Impfstriches von Bact. coli keine Meningokokkenkolonieen entstanden, offenbar infolge der gebildeten Säure; in gewöhnlichem Agar nämlich hinderte das Bact. coli das Gedeihen der Meningokokken in keiner Weise.

v. Lingelsheim hat festgestellt, daß die echten Meningokokken bei Prüfung auf verschiedenen Zuckernährböden nur Dextrose und Maltose vergären, die ihnen ähnlichen Kokken aber sich denselben Zuckern gegenüber anders verhalten; z. B. Micrococcus catarrhalis zerlegt keinen Zucker, Diplococcus crassus die Mehrzahl. Ich benutzte 4 meiner Meningokokkenstämme zu dem gleichen Versuche; davon stammen 2 (No. 1413 u. 1454) aus der Zeit der kleinen Epidemie, 2 (No. 2836 u. 3239) wurden im August aus Kieler Fällen gezüchtet, die wohl durchaus als sporadisch zu bezeichnen sind.

Es wurde 1 g des betreffenden Zuckers in 10 ccm Kahlbaumscher Lackmustinktur gelöst und davon 1,5 ccm zu 13,5 ccm des im Kieler hygienischen Institute gebräuchlichen schwach alkalischen Agars hinzugesetzt, so daß die Mischung 1 Proz. Zucker enthielt. In Platten ausgegossen, hatte die Mischung eine deutlich blaue Färbung. Andere Male wurde der Versuch genau nach der Vorschrift von v. Lingelsheim gemacht unter Benutzung neutralen Agars mit Ascitesflüssigkeit, zu der die Zuckerlösungen, die vorher durch eine bestimmte Menge Sodalösung alkalisch gemacht sind, hinzugesetzt werden. Auf jeder Platte wurde von den 4 zu prüfenden Stämmen je ein 2 cm langer Impfstrich gemacht. Es wurden angewandt: Dextrose, Lävulose, Galaktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Mannit.

Bei den beiden früher isolierten Stämmen war in 6 Versuchen das Ergebnis wie bei v. Lingelsheim: nur auf den Platten mit Dextrose und Maltose zeigte sich deutliche Rötung des Impfstriches. Die beiden jüngeren Stämme dagegen verhielten sich abweichend: No. 3239 konnte bei keinem Versuch irgend einen der Zucker zerlegen, No. 2836 griff bei 4 Versuchen alle 7 Zucker an, nur in 2 Versuchen bildete er das eine Mal aus Galaktose, das andere Mal aus Galaktose, Lävulose und Saccharose keine Säure. Laktose und Mannit gegenüber wich er also konstant von den beiden ersten Stämmen ab. Man könnte nun daran denken, daß die beiden letztgenannten Stämme nicht der echte Diplococcus intracellularis meningitidis sind, zumal da sie von isolierten Erkrankungsfällen in nicht von der Genickstarre befallener Gegend stammen; bedenkt man indes, daß sie sich mikroskopisch (gramnegative Semmelformen, viele Involutionsformen) und auf allen Nährböden, abgesehen von den Zuckerarten, und in ihrer Lebensfähigkeit

genau wie echte Meningokokken verhalten, daß sie außerdem von dem mit einem der älteren Stämme (1413) gewonnenen Kaninchenserum in gleicher Weise agglutiniert werden (Tabelle III), so ist an ihrer Identität mit dem Weichselbaumschen Diplococcus kaum zu zweifeln. Sicher ist Stamm 3239 kein Micrococcus catarrhalis und 2836 kein Diplococcus crassus trotz des gleichen Verhaltens auf den Zuckern. Auch handelt es sich beide Male um klinisch sichere Meningitis, was bei No. 3239 noch durch die Sektion bestätigt wurde. Auch sei noch darauf hingewiesen, daß die 4 Stämme immer nebeneinander in derselben Petri-Schale geprüft wurden, daß also zufällige Unterschiede im Nährboden keine Rolle gespielt haben können. Unserer Erfahrung nach, die sich allerdings leider nur auf 4 Fälle erstreckt, ist also dem Verhalten den verschiedenen Zuckerarten gegenüber einstweilen differentialdiagnostisch kein ausschlaggebender Wert beizulegen.

Tabelle III.
Agglutination mit dem Serum eines mit Meningokokken (Stamm 1413) behandelten Kaninchens.

Stamm (Buchnummer)	1:100	1:200	1:500	1:1000	Kontrolle in NaCl
1413	+	+	+	0	0
1454	+	+	0	0	0
2836	+	+	0	0	0
3239	+	+	+	+0	0

Bei der Agglutinationsprüfung der Meningokokken bedienten wir uns meist eines Pferdeserums vom Titer 2000 aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. Wir verfuhren ebenso, wie oben bei der Prüfung von Krankensera beschrieben ist. Tabelle IVa ergibt, daß eine ganze Anzahl der Stämme bis zum Endtiter agglutiniert wurde. Der Versuch gelang sofort einwandfrei mit Ausnahme von den nicht sehr zahlreichen Fällen, in denen in der Kontrollaufschwemmung der Kokken in Kochsalzlösung eine Spontanagglutination entstand, die eine Wiederholung des Versuches notwendig machte. Damit wird die Diagnose, wenn sie wie bei Untersuchung von Rachenschleim mit der Agglutination steht und fällt, um mindestens 24 Stunden hinausgeschoben. Allerdings ist manchmal trotz dieser Schwierigkeiten die Echtheit der Agglutination

Tabelle IV.
Agglutination mit Pferdeserum, Titer 2000.
a) in 24 Stunden.

Stamm (Buchnummer)	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	Kontrolle in NaCl
973	+	+	+0	0	0	0
1222	+	+	+	+0	+0	0
1237	+	+	+	+	+	+0
1242	+	+	+	0	+	0
1261	+	+0	+0	0	0	0
1270	+	+	+	+	+	0
1318	+	+	+	+	+	0
1413	+	+	+	+	+	0
1427	0	0	0	0	0	0
1454	+	+	+	+0	+0	0
1647	+0	+0	+	+	+	+0
2836	+	+	+	+0	0	0
3239	+	+	+	0	0	0

b) in 2 Stunden.

Stamm (Buchnummer)	1:30	1:50	1:100	1:200	Kontrolle in NaCl
843	+	+	+	+	0
933	+	+	+	+0	+0
1056	+	+	+	0	0
1237			+	+	0

evident, indem sie um so schneller auftritt, je weniger das Serum verdünnt ist, während die Häufchenbildung im Kontrollröhrchen erst später nachfolgt, ja letztere wurde sogar fast regelmäßig beobachtet, wenn die Röhrchen versehentlich 36 Stunden im Brutschrank blieben. Es ist daher in der Tabelle IVb für einige Stämme die Agglutination innerhalb 2 Stunden angegeben. — Daß der Stamm 1427 nicht agglutiniert wurde, ist um so auffälliger (der Versuch ist allerdings leider nur einmal gemacht), als er aus der Leiche einer Patientin gezüchtet wurde, aus der intra vitam der Stamm 1318 gewonnen war. — Ein Versuch, die Schwierigkeiten der Agglutination durch Benutzung der Präzipitinreaktion zu umgehen, gelang nicht. Das klare Bakterienextrakt wurde hergestellt entweder durch Filtration oder durch kräftiges Zentrifugieren, nachdem die Bakterien vorher mehrere Tage in Aqua dest. aufgeschwemmt und einmal auch 24 Stunden im Schüttelapparat behandelt waren. Auf Zusatz von dem Pferdeserum aus Berlin trat kein Niederschlag auf.

Da es Albrecht und Ghon gelang, bei Kaninchen ein agglutinierendes Serum zu erzeugen, so wurde trotz der Angaben von Kister, Bettencourt und França, Flügge, Kolle und Wassermann, daß Kaninchen durch Meningokokken oft kachektisch würden oder eingingen, der Versuch mit 3 Kaninchen gemacht.

Das erste Tier erhielt innerhalb einer Woche 3 Einspritzungen in die Ohrvene von je 3 oder 5 Oesen lebender Kultur. Anfangsgewicht 1570 g, nach 8 Tagen 1550 g, also jedenfalls keine rasche Abmagerung. Leider konnte die Immunisierung nicht fortgesetzt werden, da das Tier an einer damals unter den Kaninchen des Instituts herrschenden Seuche nach weiteren 8 Tagen einging. Dasselbe Schicksal traf das zweite Kaninchen, das überhaupt nur eine Einspritzung erhielt. Die Sektion ergab bei beiden Tieren in fast gleicher Weise ausgedehnte Phlegmonen, eiterige Pericarditis und Pleuritis mit dem Befund eigenartiger gramnegativer Stäbchen. Mit den eingespritzten Meningokokken hatte der Prozeß sicher nichts zu tun. Das dem ersten Kaninchen kurz vor dem Tode entnommene Blut agglutinierte den zur Immunisierung verwandten Stamm in einer Verdünnung von 1 : 200, während ich bei einigen Versuchen mit normalem Kaninchenserum keine Beeinflussung der Meningokokken sah.

Erst das dritte Kaninchen führte zu einem befriedigenden Ergebnis. Es erhielt von frischer, lebender Ascitesagarkultur des Stammes 1413 in die Ohrvene:

am 17. Mai 2 Oesen, Gewicht 2000 g
„ 21. „ 1 Oese, „ 2020 „
„ 28. „ 5 Oesen, „ 2010 „
„ 5. Juni 6 „ „ 2010 „
„ 14. „ 5 „ „ 2000 „

Am 17. Juni Blutentnahme. Agglutination mit dem eigenen Stamm 1413 in allen Verdünnungen bis 1 : 800 positiv. Eine fast ebenso hohe Agglutination ergab sich mit mehreren anderen Stämmen. — Nach 2 Monaten, am 6. Aug. (Gewicht 2550 g, das Tier ist trächtig), 5 Oesen in die Ohrvene.

Am 9. Aug. Entnahme. Das Serum agglutiniert den Stamm 1413 nur noch in Verdünnung 1 : 50. Durch zwei gleich starke Injektionen im September konnte der Titer wieder bis auf 500 gebracht werden. Das Tier reagierte nie mit Krankheitserscheinungen auf die Einspritzung, wurde sogar in dieser Zeit zweimal trächtig.

Von den übrigen Tierversuchen ergaben die an 4 Mäusen (je 3 Oesen intraperitoneal) 3mal schweres Kranksein von 1—2-tägiger Dauer, 1mal den Tod des Tieres; an einem Meerschweinchen, das

kokkenhaltige Cerebrospinalflüssigkeit intraperitoneal erhielt, Tod innerhalb 24 Stunden mit Befund typischer Meningokokken im Peritoneum, in Milz und Herzblut. 2 Tauben, die je 1/2 Kultur von einem Ascitesagarröhrchen intravenös oder in die Leibeshöhle erhielten, erkrankten nicht.

Andere Mikroorganismen in Punktionsflüssigkeiten.

Bei den wegen Meningitisverdachts eingesandten Cerebrospinalflüssigkeiten erlebt man es fast nie, daß nach Aussaat größerer Mengen die Platten gänzlich keimfrei bleiben; wenigstens gilt dies, wo die Proben unter den schwierigen Bedingungen der Praxis entnommen worden sind und danach viele Stunden durch die Versendung bis zur Verarbeitung verstrichen sind. Bei Abwesenheit von Meningokokken ist ein Urteil über die ätiologische Bedeutung andersartiger Befunde oft sehr schwierig, und es ist jedenfalls größte Vorsicht erforderlich. Aus der Geschichte der Genickstarre ist bekannt, welch verhängnisvolle Rolle die Verunreinigungen und zufälligen Beimengungen gespielt haben. Neben den sehr gewöhnlichen Staphylokokken fand ich so auf den Kulturen wiederholt Pseudodiphtheriebacillen und gramnegative Stäbchen verschiedener Art, besonders nach Aussaat von 0,5—1 ccm, ohne daß deswegen die Annahme berechtigt gewesen wäre, daß sie ursprünglich in der Spinalflüssigkeit vorhanden waren oder gar zu dem Krankheitsprozeß in Beziehung ständen. Da sie häufig auf der Haut vorkommen, können sie ebenso leicht daher stammen, und eine Feststellung darüber, ob und wie oft auch solche Keime in die Meningen verschleppt werden, muß am Krankenbett oder an der Leiche gemacht werden unter peinlichster Sauberkeit bei der Entnahme des Materials und sofortiger Aussaat.

Immerhin ist nach den Untersuchungen v. Lingelsheims nicht mehr daran zu zweifeln, daß es mehrere Keime gibt, die oft neben dem eigentlichen Erreger in den erkrankten Meningen vorkommen, unter ihnen in erster Linie der Diplococcus crassus, den er für identisch mit dem Meningococcus Jäger-Heubner hält. Anfangs wurde von mir nicht besonders nach ihm gesucht; jedoch fand ich in der letzten Zeit auf Kulturen von zwei Fällen semmelförmige Diplokokken, die sich gegenüber der Gram-Färbung stets zweifelhaft erwiesen, und die auf Agar und Ascitesagar kleine, ziemlich undurchsichtige Kolonieen bilden. Allerdings stimmen diese beiden Stämme nicht miteinander überein, da der eine Gelatine verflüssigt und Milch zur Gerinnung bringt, was der Diplococcus crassus nach v. Lingelsheim nicht tut. Nur der zweite würde in seinem Wachstum diesem gleich sein, wenn er nicht jene 7 Zuckerarten sämtlich spaltete, während der Diplococcus crassus Mannit nicht angreift. Wichtig ist jedoch — und darum sei er hier erwähnt — daß dieser Coccus, der auch kurze Kettchen bildet, ein auffälliges Merkmal des Jägerschen Coccus, das später noch Lepierre hervorgehoben hat, sehr deutlich zeigt: die Trennungslinie der Diplokokken in der Längsrichtung der Kette. Sie kommt bei der Gram-Färbung nicht zum Vorschein, kann aber durch Methylenblau oder Giemsa-Lösung leicht dargestellt werden. Das Meningokokkenserum agglutinierte die beiden Stämme nicht (der Diplococcus crassus wurde nach v. Lingelsheim agglutiniert), und wenn sie demnach auch nicht als Diplococcus crassus bezeichnet werden dürfen, so gehören sie doch jedenfalls zu jenen Mikroorganismen, die in der Geschichte des Meningococcus so große Verwirrung angerichtet haben.

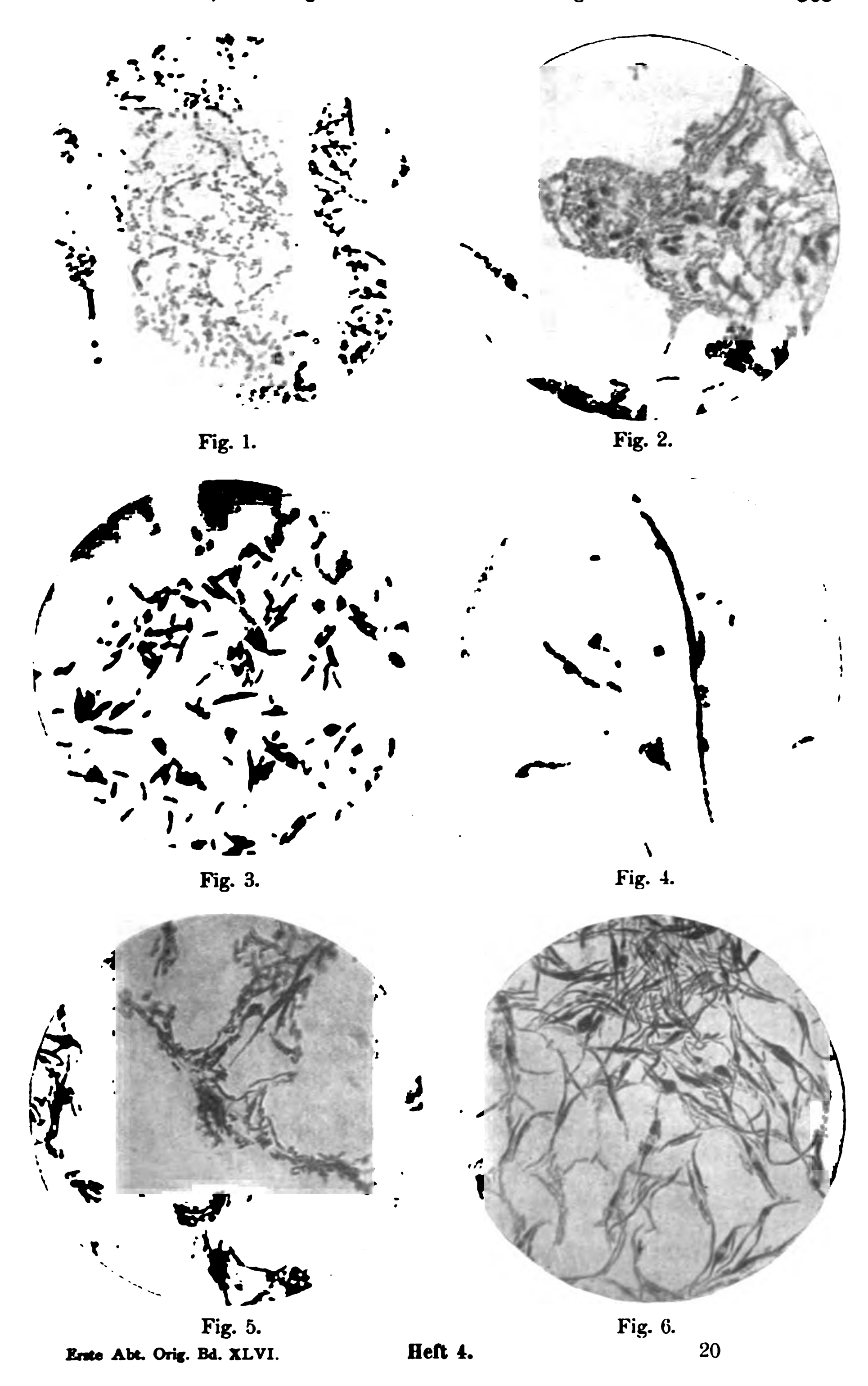


Fig. 1. Fig. 2.

Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 5. Fig. 6.

Noch weniger gelingt eine nähere Klassifizierung bei den folgenden Befunden. Es wurden aus drei klaren Cerebrospinalflüssigkeiten, in denen das direkte Präparat nichts oder ganz vereinzelt etwas unsichere Diplokokken auffinden ließ, durch Kultur auf Loeffler-Serum und Ascitesagar polymorphe Keime gezüchtet. Zwei von ihnen, im folgenden als Stamm I und II bezeichnet, erwiesen sich bei genauerer Verfolgung als gleich, der dritte (Stamm III) wich etwas ab.

Stamm I und II. Im Mikroskop sieht man (Fig. 1—4):

1) Diplokokken, von denen beide Teile rund sind oder oval, keine Semmelformen;
2) Ketten von 20 und mehr Kokken;
3) Einzel- und Doppelkokken, die bedeutend größer sind und stärker gefärbt als die übrigen;
4) Stäbchen von der Breite der erstgenannten Kokken, aber von ganz verschiedener Länge. Oft sind es Fäden, die, leicht gebogen, sich durch das ganze Gesichtsfeld ziehen.

Bei dem ersten Stamm (Fig. 1 u. 2) überwiegen aus den meisten Kulturen die Kokkenformen, die da, wo sie eine Kette bilden, einigemal von einem feinen Schlauch überzogen zu sein scheinen. Bei dem zweiten Stamm (Fig. 3 u. 4) ist die Bildung langer Fäden etwas seltener, die mittellangen Stäbchen überwiegen. Manchmal hat ein Faden an einem Ende deutliche Kugeln, und man sieht den allmählichen Uebergang in längere Formen, bis der kontinuierliche Faden daraus geworden ist.

Stamm III (Fig. 5 u. 6) unterscheidet sich von den beiden ersten dadurch, daß neben den Kokken und Fäden sehr oft Spindelformen entstehen mit langen zugespitzten Enden, die manchmal in Kugeln zerfallen. Die breiteste Stelle der Spindel wird oft von einer helleren, schwach gekörnten Zone eingenommen, so daß die stark gefärbten Teile aussehen wie zwei mit ihrem dicken Ende aufeinander gesetzte Keile mit einem schwach gefärbten Zwischenstück.

Nach Gram entfärben sich bei allen 3 Stämmen die Kugelformen sowohl als die Stäbchen und Fäden, und nur die ganz dicken, aufgetriebenen Formen erscheinen manchmal dunkelviolett. Diese vielgestaltigen Bilder entstehen, einerlei, ob man die Präparate von 9- oder 24-stündigen Kulturen anfertigt. Rand und Mitte einer Kolonie bieten keinen Unterschied in den Formen. Nur Traubenzuckerzusatz zum Nährboden scheint eine Rolle zu spielen, indem dann mehr Kokkenformen zu sehen sind. In der Strichkultur auf schrägerstarrtem Agar finden sich in der Regel nur Stäbchen, keine längeren Fäden.

Auf den Nährböden wachsen die 3 Stämme, wie folgt:

Gelatine: Gutes Wachstum bei Zimmertemperatur. Stamm I und II verflüssigen nicht, Stamm III verflüssigt.

Agar: Bei allen 3 Stämmen nach 24 Stunden kleine Kolonieen, an Durchsichtigkeit etwa in der Mitte zwischen Meningo- und Staphylokokken stehend; bei schwacher Vergrößerung glatter Rand; leicht bräunliche Färbung.

Glycerinagar: Ebenso.

Blutagar: Bei Stamm I und II kleine weißliche Kolonieen; keine Veränderung des Blutfarbstoffes. — Bei Stamm III Kolonieen ebenso groß, in 5 Tagen bis 2 mm breit werdend; breiter Hof, in dem der Blutfarbstoff zerstört ist.

Bouillon: Bei allen minimale Trübung, geringer Bodensatz; bei III etwas stärker.

Traubenzuckeragar im Röhrchen, kurz vor dem Erstarren beimpft: Bei allen nur an der Oberfläche kräftiges Wachstum ohne Gasbildung.

Milch: Bei allen unverändert, trotz nachweisbarer Vermehrung.

Ascitesagar: Bei allen sind die Kolonieen nicht größer als auf gewöhnlichem Agar. Bei Stamm III nach 48 Stunden deutliche Trübung des Nährbodens, die einen 1—2 mm breiten Hof um die Kolonie bildet.

Auf allen festen Nährböden haben die Kolonieen erst nach 48 Stunden volle Entwickelung.

Auf Lackmusagar, der mit je 1 Proz. Dextrose, Galaktose, Maltose und Saccharose versetzt ist, wachsen Stamm I und III blau; Stamm II wurde nicht geprüft.

Auf schrägem Agar wird die Kulturmasse des Stammes III nach einiger Zeit zäh-schleimig, so daß nur schwer etwas davon an der Nadel hängen bleibt.

Tierversuche wurden mit Stamm I und II nur an grauen und weißen Mäusen gemacht: es konnten beliebige Mengen, bis zu einer ganzen Kultur auf schrägem Agar, in die Bauchhöhle eingespritzt werden: die Tiere zeigten kurzdauernde Krankheit, gingen aber nicht ein. Subkutan geimpfte Mäuse wurden nicht krank. Dagegen war Stamm III für Mäuse pathogen: 2 graue Mäuse, mit 1 Oese Kultur intraperitoneal, starben nach 20 und 36 Stunden. Aus der Milz und dem Herzblut wurden dieselben polymorphen Bakterien in Reinkultur gezüchtet. Direkte Ausstriche von Milz und Herzblut zeigten mäßig viele gramnegative Diplokokken. Ebensoviel erhielt ein Meerschweinchen intraperitoneal, ein zweites intracardial (nach Morgenroth, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1904. p. 195); sie gingen nicht ein. Auch vertrugen Tauben Einspritzung von 2 Oesen frischer Kultur in die Flügelvene und in die Leibeshöhle.

In allen 3 Fällen lag klinisch ausgesprochene Meningitis vor. Da aber diese Mikroorganismen in keinem der Fälle in Reinkultur wuchsen, auch nur wenige oder gar keine Kokken im direkten Präparate gefunden wurden, so hätten wir trotz ihrer überwiegenden Zahl in den Kulturen — es war 0,5 ccm Flüssigkeit ausgesät — kaum anzunehmen gewagt, daß sie schon in den Meningen vorhanden waren, und daß sie nicht erst bei der Entnahme in die Flüssigkeit gelangt seien. Nun hat aber kürzlich v. Hibler ähnliche Keime bei zwei Sektionen an Meningitis gestorbener Patienten fast in Reinkultur aus dem Gehirneiter gezüchtet. Das läßt die Annahme zu, daß es sich auch in unseren Fällen nicht um eine zufällige Beimengung handelt. Die Mikroorganismen des 3. Falles v. Hiblers scheinen, soweit das die vorläufige Mitteilung erkennen läßt, den unsrigen recht ähnlich zu sein, wenn auch das Wachstum unter anaëroben Bedingungen in Traubenzuckeragarröhrchen, das er beobachtete, bei uns nicht zu stande kam. Aber schon die ausschließliche Bildung von Kokkenformen im Tierkörper würde ein wichtiger Vergleichspunkt sein. Denn im direkten Ausstriche des Meningeneiters fand v. Hibler nur gramnegative Kokken. — Es scheint hiernach, daß man diesen Kokken im Meningealexsudat nicht so ganz selten begegnet, und sie sind ein Grund mehr, bei der Beurteilung gramnegativer Diplokokken im direkten Ausstrichpräparate vorsichtig zu sein.

Ueber die Rolle dieser Mikroben bei der Meningitis etwas ganz Sicheres aussagen zu wollen, wäre jedenfalls verfrüht. Sie sind meines Wissens außer bei v. Hibler noch nicht beschrieben. Dieser fand in seinem 3. Fall neben den polymorphen Bakterien auch vereinzelte

Streptokokkenkolonieen. Es ist also wohl denkbar, daß letztere die Erreger der Meningitis waren, und daß die in Rede stehenden Bakterien sich ohne pathogene Eigenschaften in den erkrankten Meningen als einem Locus minoris resistentiae angesiedelt hätten. Die gleiche harmlose Rolle, die nach v. Lingelsheim der Diplococcus crassus im Liquor cerebrospinalis spielt, könnte auch diesen polymorphen Bakterien zukommen.

Es bleibt nun noch übrig, die anderen von uns gefundenen Meningitiserreger zusammenzustellen. Es wurden 1905 und 1906 je 1mal, 1907 6mal Pneumokokken als Erreger erkannt, Streptococcus pyogenes 1905 1mal, 1907 2mal. Streptococcus mucosus fand sich 1905, 1906, 1907 je 1mal in Reinkultur (vergl. oben den Abschnitt über die Leichenteile). Typhusbakterien wurden im Jahre 1906 1mal in einer Cerebrospinalflüssigkeit zusammen mit Tuberkelbacillen gefunden. Daß hier gleichzeitig eine Infektion mit Tuberkulose und Typhus vorlag, ist anzunehmen, da das Blutserum des Patienten Typhusbakterien in einer Verdünnung von 1 : 1000 agglutinierte und später die Sektion die Diagnose der tuberkulösen Meningitis bestätigte. Leider wurde nur die Schädelsektion gestattet.

In einem Falle konnte in diesem Jahre Meningitis, durch Bacterium coli erzeugt, nachgewiesen werden bei einem 2-jährigen Kinde, bei dem die Coli-Infektion von einer Cystitis ausging. Die gramnegativen Stäbchen fanden sich massenhaft in der leicht getrübten Cerebrospinalflüssigkeit und wuchsen in Reinkultur auf den Platten. Nachträglich wurden sie auch bei der Autopsie in Reinkultur aus dem Meningealeiter, dem Herzblut, der Milz, der Leber und aus Abscessen in der Niere gezüchtet. Das Stäbchen ist gut eigenbeweglich und verhält sich auf allen Nährböden wie Bacterium coli; auffällig ist nur sein kräftiges Wachstum auf Malachitgrünagar (wir benutzen eine Verdünnung von 1 : 50000 für Typhusaussaaten) und die Fähigkeit, auf Blutagar durch Zerstörung des Hämoglobins einen Hof zu bilden. Nach den Untersuchungen von A. Burk im hiesigen Institute stellen jedoch diese beiden Eigenschaften die Zugehörigkeit dieses Stäbchens zur Coli-Gruppe nicht in Frage. Erwähnt sei noch, daß der Stamm aus Saccharose keine Säure bildet, und daß ihn Burk wegen des weniger üppigen Wachstums zu seiner „Abteilung I“ rechnet.

In einer Punktionsflüssigkeit, die wenig Eiter enthielt, wurden nach Gram nicht färbbare mittellange Stäbchen in reichlicher Menge gefunden. Auf Loeffler-Serum und Lackmus-Laktoseagar (v. Drigalski-Conradi) entstanden punktförmige Kolonieen, die dann aber nicht mehr fortzüchtbar waren. Um was für Bakterien es sich gehandelt hat, blieb unaufgeklärt.

Zusammenfassend möchte ich folgendes hervorheben:

1) Die isolierten Meningokokken stimmten durchaus mit der schon von Weichselbaum gegebenen Schilderung überein. Insbesondere fand keine Abänderung der Eigenschaften bei der Weiterzüchtung statt.

2) Zwei echte Meningokokkenstämme verhielten sich auf verschiedenen Zuckernährböden anders, als es nach v. Lingelsheim typisch ist.

3) Auch Sera, die nicht von Genickstarrefällen herrührten, agglutinierten Meningokokken in Verdünnungen 1 : 30 bis 1 : 100. Es sind darum solch niedere Agglutinationswerte nicht für Meningokokkeninfektion beweisend.



4) Aus drei Cerebrospinalflüssigkeiten wurden zwei etwas verschiedene Arten polymorpher Bakterien gezüchtet, über deren ätiologische Bedeutung für die bestehende Meningitis ein sicheres Urteil nicht abgegeben werden kann.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat B. Fischer meinen ergebensten Dank auszusprechen für Ueberlassung des Materiales und für freundliches Interesse an meiner Arbeit; auch möchte ich Herrn Dr. Reiner Müller für mannigfache Anregung danken.

Literatur.

Albrecht u. Ghon, Ueber die Aetiologie und pathologische Anatomie der Meningitis cerebrospin. epid. (Wien. klin. Wochenschr. 1901.)
— —, Zur Frage der morphol. u. biol. Charakterisierung des Meningococcus intracell. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 496.)
Bettencourt u. Franca, Ueber die Meningitis cerebrospin. und ihren spezifischen Erreger. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. 1904. p. 463.)
Burk, Untersuchungen über Bakterien der Coli-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. p. 577.)
Ditthorn u. Gildemeister, Die im hygien. Institut in Posen in der Zeit vom Nov. 1905 bis Mai 1906 ausgeführten Genickstarreuntersuchungen. (Klin. Jahrb. Bd. XVII. 1907. p. 95.)
Faber, Bakt. Untersuchungen von Fällen epidem. Cerebrospinalmeningitis in Kopenhagen im Sommer 1898. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIV. 1900. p. 253.)
Flügge, Die im hygien. Institut der kgl. Universität Breslau während der Genickstarreepidemie 1905 ausgeführten Untersuchungen. (Klin. Jahrb. Bd. XV. 1906. Heft 2.)
Heubner, Aetiologie und Diagnose der epidem. Cerebrospinalmeningitis. (Deutsche med. Wochenschr. 1896. p. 423.)
— —, Noch einmal der Meningococcus intracell. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LVI. 1902. p. 359.)
v. Hibler, Bakt. Bericht über 3 Fälle von Cerebrospinalmeningitis. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. XX. 1907. No. 32. p. 190.
Jäger, Zur Aetiologie der Meningitis cerebrospin. epidem. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XIX. 1895.)
— —, Epidem. u. Bakteriologisches über Cerebrospinalmeningitis. (Deutsche med. Wochenschr. 1899. p. 472.)
Kister, Ueber den Meningococcus intracell. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XX. 1896. p. 148.)
Kolle u. Wassermann, Untersuchungen über Meningokokken. (Klin. Jahrb. Bd. XV. 1906. p. 507.)
Lepierre, Subsidio para o estudo do meningococco. (Separata do movimento medico. Coimbra 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXV. 1904. p. 43.)
v. Lingelsheim, Die bakt. Arbeiten der kgl. hygien. Station zu Beuthen während der Genickstarreepidemie in Oberschlesien, Winter 1904 u. 1905. (Klin. Jahrb. Bd. XV. 1906. p. 373.)
Manteufel, Beiträge zur Aetiologie der epidem. Genickstarre. (Münch. med. Wochenschrift. 1905. p. 2066.)
Schottmüller, Ueber Meningitis cerebrospin. epidem. (Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1617.)
Sorgente, Weitere Untersuchungen über den Meningococcus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1906. p. 1.)
Weichselbaum, Meningokokken. (Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. III. 1903.)
Wollenweber, Die Genickstarreuntersuchungen der bakt. Untersuchungsstelle der kgl. Regierung zu Düsseldorf vom 1. Okt. 1905 bis 1. Juli 1906. (Klin. Jahrb. Bd. XVII. 1907. p. 38.)

Neue bakteriologische Untersuchungen über die Pellagra.

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. **Guido Tizzoni.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

In dem vorliegenden Artikel beabsichtige ich folgende Tatsachen mitzuteilen:

Der Keim, den ich aus dem Blute, der Cerebrospinalflüssigkeit und den Organen von schweren und rasch zum Tode führenden Pellagraformen (Typhus pellagrosus, Pellagrapsychose)[1]) erhalten habe, läßt sich aus den Dejektionen von Kranken, die an gewöhnlichen Pellagraformen leiden, und in manchen Fällen auch aus dem Blute der Kranken selbst isolieren.

Denselben Keim hat man in gleicher Weise (in 2 von 9 Fällen) aus einigen Proben verdorbenen Maises, die ich durch Vermittelung des Landwirtschaftsministeriums vom Interprovinzialen Pellagra-Kommitee zu Udine erhalten habe, kultivieren können; und zwar waren schon 8 bis 10 Monate seit der Einsammlung des Maises vergangen und er selbst befand sich in ziemlich trockenem Zustande.

Die Maisproben, bei welchen die Kultur ein positives Resultat ergab, zeigten im höchsten Grade die charakteristischen Merkmale des verdorbenen Maises, besonders hinsichtlich der Veränderung der Farbe, die von einem gelben in einen entschieden rötlichen Ton übergegangen war.

Dagegen gaben immer ein negatives Resultat ebensoviele von mir untersuchte Proben gesunden Maises, welche ich an Orten gesammelt hatte, an denen die Pellagra nicht herrscht.

Bei den in Rede stehenden Kulturen kann eine gewisse Variabilität des Aussehens vorhanden sein, die durch ihre verschiedene Herkunft bedingt ist.

Trotz solcher Variationen, welche besonders die Ueppigkeit und das Aussehen der Kultur in Agar, ihre Entwickelungsmöglichkeit in Gelatine und die größere oder geringere Schwarzfärbung des Blutes betreffen, und welche aller Wahrscheinlichkeit nach ebenso vielen Graden ihrer Abschwächung entsprechen, lassen sich alle oben erwähnten Kulturen auf denselben bakteriologischen Typus zurückführen.

Wie dem auch sei, die Identifizierung der Kulturen läßt sich in jedem Falle leicht durch ihre pathogene Wirkung auf Meerschweinchen bewerkstelligen, bei welchen sie konstant das charakteristische von mir beschriebene Krankheitsbild erzeugen und den Tod in 30—80 Tagen herbeiführen. Es geschieht dies sowohl bei subkutaner Injektion einer Emulsion von jungen Blutagarkulturen in salzhaltigem Wasser als auch bei Einführung derselben Kultur auf dem Wege durch den Magen, vorausgesetzt, daß man in diesem Falle (wie ich schon bei anderer Gelegenheit gesagt habe)[2]) eine gemischte Nahrung verwendet, bei welcher

1) Tizzoni e Fasoli, Saggio di ricerche batteriologiche sulla pellagra. (Memorie della R. Accad. dei Lincei. Ser. 5. Cl. di scienze fisiche, matematiche e naturali. Vol. VI. seduta del 1. Aprile 1906.)

2) Tizzoni e Panichi, Ulteriori ricerche sperimentali sulla pellagra. [Nota preventiva, letta alla R. Accad. delle scienze dell'istituto die Bologna nella sessione del 24 febbraio 1907. Rendiconti.] (Gaz. degli Opsitali e delle Cliniche. 1907. No. 28.)

Maismehl in großer Menge eingeführt wird. Bei dem Durchgange durch das Meerschweinchen können bisweilen bei den Kulturen dieselben Variationen im Aussehen und in den bakteriologischen Charakteren entstehen, die man bei denen verschiedener Herkunft bemerkt hat, und zwar sowohl in aufsteigendem, als auch in absteigendem Sinne.

In der ausführlichen, demnächst erscheinenden Arbeit werden ausführliche Beweise für die hier berichteten Tatsachen beigebracht und alle technischen Einzelheiten angegeben werden, mit Hilfe deren man bei genügender Gewandtheit die Isolierung des in Rede stehenden Keimes erreichen kann.

Ueber Pebrine und verwandte Mikrosporidien.

Zweite Mitteilung.

Von Dr. **Adolf Lutz** und Dr. **Alfonso Splendore.**

Mit Figuren.

Durch äußere Umstände wurden wir bis heute verhindert, unsere Mitteilungen über Mikrosporidien fortzusetzen, obgleich sich bereits zur Zeit des Erscheinens unseres Nachtrages zur ersten Mitteilung (No. 5 1904) ein beträchtliches Material von neuen Nosema-Arten angesammelt hatte. Dasselbe hat sich seitdem kaum vermehrt, wenn auch einige Beobachtungen wiederholt wurden.

Durch unsere neuen Entdeckungen wurde nicht nur das Gebiet der beobachteten Wirtstiere um ein bedeutendes vermehrt, so daß dasselbe außer Arthropoden und Fischen nun auch Würmer und sogar Protozoen umfaßt, sondern es kamen auch recht auffallende Verschiedenheiten in Form und Größe vor. So wurde neben der seitlich abgeplatteten sogar eine regelmäßig gekrümmte, sehr langgezogene Birnform aufgefunden, die einigermaßen an die Sporen von Sarcosporidien erinnert, während der Längsdurchmesser der größten Art denjenigen der kleinsten um das Fünffache übertraf.

Was die Gruppierung der Sporen anbetrifft, so wurden in den Cysten neben einer beliebigen größeren Anzahl auch mehrfach 8 als konstante Zahl gefunden. In anderen Fällen enthielten die Cysten immer nur eine geringe Zahl von Sporen und öfters deren bloß 8 oder 4, ohne daß eine Normalzahl aufgestellt werden könnte. Aehnliches kommt auch bei der früher beschriebenen Nosema periplanetae vor. Endlich fanden sich auch bei demselben Wirtstiere, aber räumlich getrennt, der Form nach nicht deutlich zu unterscheidende Sporen vor, welche das eine Mal in unregelmäßiger Anzahl vorkamen, das andere Mal zu 8 in kleinen Cysten angeordnet waren. Diese neuen Befunde sprechen auch dafür, daß die Sporenzahl kaum ein brauchbares Gattungsmerkmal abgibt und besser nur zur Gruppierung im Innern der Gattung Verwendung findet.

Das Vorkommen eines Polfadens wurde auch diesmal (mit Ausnahme einer Art, wo derselbe leicht zu beobachten ist) konstant vermißt, selbst in Fällen, wo es sich um Wassertiere handelt. Wir können kaum annehmen, daß derselbe überall vorhanden ist, nachdem die verschiedenen Austreibungsmethoden konstant ein negatives Resultat ergeben haben. Gestützt auf ein Material, das an Reichhaltigkeit und Anzahl der Einzel-

beobachtungen wohl kaum übertroffen worden ist, möchten wir das Vorkommen desselben bei den meisten echten Mikrosporidien entschieden in Frage stellen; doch scheint der Zeitpunkt noch nicht gekommen, um diesen negativen Charakter zur Klassifizierung zu verwenden. Dasselbe gilt von der Art und Weise, wie sich die Schalen öffnen.

Einem leicht zu erwartenden Einwurfe vorbeugend, möchten wir auch noch besonders erwähnen, daß bei den beobachteten Formen eine Verwechslung mit anderen organisierten oder unorganisierten Elementen tunlichst ausgeschlossen ist. Obgleich eine Verwechselung mit Konkrementen aus den Malpighischen Gefäßen, Kalkkörperchen von Plathelminthen, Pilzsporen, Hefezellen und Infusoriencysten durchaus möglich ist und bei dem Anfänger sehr leicht vorkommt, glauben wir uns vor einer solchen, teils durch Ausschließung dieser Formen, teils durch eine lange Erfahrung, hinreichend geschützt. Für das geübte Auge haben die Pebrinesporen etwas so Charakteristisches, daß wir dieselben sogar im Darminhalte einer Katze ohne weiteres erkennen und auf diese Weise infizierte Ascariden vermuten und auffinden konnten. Dieser Befund und zwei andere bei Distomen und Balantidien aus Batrachiern bieten noch ein ganz besonderes Interesse, indem der Wirt selber Parasit ist und trotzdem wahrscheinlich eine direkte Infektion vorkommt, ohne daß wir gezwungen wären, auf die erbliche Uebertragung zu rekurrieren.

Das Vorkommen von Mikrosporidien bei Eingeweidewürmern ist freilich nicht neu, indessen liegen die Beobachtungen so weit zurück, daß eine neue Bestätigung nur erwünscht sein könnte. Ueber das Vorkommen bei Infusorien existiert nur eine Beobachtung, die von Balbiani mit einigem Zweifel angeführt wird. Das Befallensein einzelliger Organismen ist aber von besonderem Interesse, weil es uns gestattet, über die Zugehörigkeit der Kerne ein sicheres Urteil zu fällen.

In folgendem geben wir eine Beschreibung der beobachteten neuen Formen:

I. Regelmäßige monomorphe Arten.

A. Octosporen (Thelchaniaform).

1) Nosema simulii (Fig. 29) α und β zeigen den Pleistophora-Typus, γ ist eine schon beschriebene Telchania-Form. Sphärische oder eiförmige Cysten, die 8 regelmäßig eiförmige Sporen enthalten, welche denen von γ gleichen, aber etwas kleiner sind. Am hinteren Pole sieht man fast konstant eine deutliche Vakuole. Länge der Sporen: 5—5,5, Breite 3—3,5 μ. Neben den Cysten mit glänzenden trifft man solche mit blassen Sporen, zwischen denen sich glänzende Körner finden, wohl ein Analogon der Restkörner. Der Inhalt der blassen Sporen ist fast ganz von einer großen Vakuole gebildet.

Werden die glänzenden Sporen einige Tage in feuchter Kammer aufbewahrt, so werden sie blasser, die Vakuole nimmt zu und es kann ein Polfaden austreten, der 35—40mal länger ist als der Längsdurchmesser der Spore. Nach Austritt des Fadens sieht man in den Sporen einen rundlichen, unregelmäßigen Körper (Analogon der Polkapseln der Myxosporidien), der bald zentral gelegen, bald einem der Pole genähert ist; die Polkalotten scheinen nun im äußeren Konture abgeflacht, während unter demselben ein zweiter eiförmig gewölbter erscheint (Fig. 29 A).

Nach diesem neueren Befunde müssen wir wohl annehmen, daß, den 4 Formen entsprechend, nicht weniger als 4 Arten bei unseren Si-

29. 30. 31.

32. 33. 34.

35. 36. 37.

29.A 38. 39. 40.

mulium-Larven vorkommen. Auffallend ist, daß dieselben alle an derselben Lokalität aufgefunden wurden, wo allerdings die Simulium-Larven jahraus jahrein in größter Anzahl existieren.

Ein anderer Befund von regelmäßig eiförmigen Octosporen (No. 2) wurde bei Larven von Brassolis astyra gemacht, doch waren dieselben in Form und Lokalisation nicht genügend von der bereits beschriebenen Nosema-Form verschieden, um sie mit Sicherheit als eine neue Art anzusprechen.

B. Unbestimmte Sporenzahl in diffuser Verbreitung.

3) Nosema Sabaunae (Fig. 40). Regelmäßig eiförmige, längliche, glänzende Sporen mit konstanter Vakuole am hinteren stumpfen Ende, teils frei, teils in Cysten von inkonstanter Sporenzahl. Gefunden in der Raupe einer gemeinen Bombycide, spärlich von uns in São Paulo, reichlicher von Herrn Foetterle in Material aus Sabaúna. (Der Name des Schmetterlings konnte bisher nicht festgestellt werden.) Länge der Sporen 6—7 μ, Breite 2—2,5 μ.

4) Nosema auriflammae (Fig. 38). In der Imago einer kleinen Bombycide, Scea auriflamma, fanden sich in diffuser Verbreitung glänzende Sporen von regelmäßiger Eiform ohne wahrnehmbare Vakuole. Länge 3,5—5, Breite 1,7—2,5 μ.

5) Nosema mystacis (Fig. 32). Diese Art wurde bei zwei weiblichen Exemplaren von Ascaris mystax aus dem Darme einer Katze gefunden. Sie zeigten das Lumen der Genitalröhren vollständig mit Sporen erfüllt und enthielten weder Spermatozoen noch Eier. Die Sporen von regelmäßiger Eiform waren glänzend und zeigten eine runde Vakuole am Hinterende. Länge 4—4,5, Breite 2—2,5 μ.

6) Nosema distomi (Fig. 33). Diese Art wurde in einem kleinen Distomum gefunden, welches den Darm von Bufo marinus bewohnt, und zwar nur in Exemplaren aus einer bestimmten Lokalität (Guaringuetá). Es dürfte sich um Distomum linguatula Rud. handeln, dessen Beschreibung uns nicht zugängig ist. Die Sporen lagen frei oder in unbestimmter Zahl incystiert im Dotterstock; ihre Form ist regelmäßig eiförmig und nahe am hinteren Pole ist öfters eine rundliche Vakuole sichtbar; Länge 2, Breite 0,8—1 μ.

7) Nosema chironomi (Fig. 35). Diese Art wurde in einer Süßwasser-bewohnenden Larve von grüner Farbe gefunden, welche indessen mit anderen roten Chironomus-Larven die größte Aehnlichkeit zeigte. Es fanden sich diffus verbreitet im hinteren Teile des Darmes in großer Zahl kleine, glänzende, birnförmige Sporen mit einer Vakuole am breiteren hinteren Pole. Länge 2—3 μ, größte Breite 1,5—2 μ.

8) Nosema ephemerae α (Fig. 36). Im Darme von Ephemeridenlarven fanden sich in diffuser Verbreitung eiförmige glänzende Sporen, die am stumpferen Hinterende nur selten eine Vakuole zeigen. Länge 3,5—4, Breite 2—2,5 μ.

9) Nosema ephemerae β (Fig. 37). Diese Form ist viel kleiner und birnförmig. Die glänzenden Sporen fanden sich bald diffus, bald im Innern kleiner Cysten, in letzteren bald in unbestimmter, bald in regelmäßiger Zahl, zu 4 oder 8. Länge 2, größte Breite 0,6 μ.

II. Regelmäßige polymorphe Arten.

10) Nosema hydriae β (Fig. 39). In der Imago einer unbestimmten Hydria (Bombycidae) vom Amazonasgebiete fanden sich in diffuser Verbreitung glänzende Nosema-Sporen von regelmäßiger ovoider oder cylindereiförmiger Gestalt, die am stumpferen Hinterende gewöhnlich eine deutliche runde Vakuole aufweisen. Länge 3,5—5,5, Breite 2

bis 3 μ. Eine zweite Art aus demselben Gebiete enthält ein ähnliches Nosema, γ (No. 11), das aber durchschnittlich etwas kleiner ist. Die Schmetterlinge stammen aus der Sammlung des Herrn Foetterle, welcher die Infektion zuerst konstatierte.

12) Nosema ephialtis. Von Herrn Foetterle in den Imagines einer kleinen Bombycide, Ephialtes angulosa, bei Petropolis aufgefundene Art. Die diffus verbreiteten Sporen sind eiförmig und cylindereiförmig ohne deutliche Vakuole. Länge 3,5—5,5, Breite ca. 2 μ.

Unregelmäßige Formen.

13) Nosema corethrae (Fig. 30). In der hyalinen Larve einer Corethra (Sayomyia) zeigten sich schon dem bloßen Auge kreideweiße Punkte, welche sich unter dem Mikroskop als Anhäufungen von kleinen Cysten entpuppten, welche in wechselnder Anordnung je 8 glänzende Sporen enthielten. Dieselben zeigten eine sehr gestreckte Birn- oder Cylindereiform mit in einer Ebene gebogener Längsachse. Letztere beträgt 5,5—7,5, der Querdurchmesser 1,5—2 μ. Am etwas breiteren hinteren Pole befindet sich eine rundliche Vakuole.

14) Nosema balantidii (Fig. 34). Im Enddarme von Bufo marinus finden sich hierzulande häufig Infusorien vom Typus der Balantidien.

Soweit jene von Kröten aus einer bestimmten Lokalität (Guaratinguetá) stammten, erwiesen sie sich fast regelmäßig als Wirte einer Nosema-Art. Ebensolche mit Nosema infizierte Infusorien fanden wir in Fröschen aus der nächsten Umgebung der Stadt São Paulo. Die Sporen lagen diffus oder in kleinen Cysten mit zahlreichen oder wenigen (4 bis 8) Sporen. Letztere sind birnförmig oder eiförmig mit einem zugespitzten Ende, dabei aber regelmäßig derart abgeflacht, daß sie einen langen und senkrecht dazu einen kurzen Querdurchmesser darbieten. Länge 2—5, größte Breite 1—3 μ.

15) Nosema stegomyiae. In der Imago von Stegomyia fasciata fanden wir ziemlich selten eine polymorphe Nosema-Art. Die Sporen sind regel- oder unregelmäßig eiförmig oder pyriform und fanden sich im Darme zerstreut oder in vielsporigen Cysten. Länge 3,5—7, Breite 2—2,5 μ.

Beiläufig sei hier noch erwähnt, daß wir auch einmal in einer, wahrscheinlich zu Culex serratus gehörigen Mückenlarve zu den Serosporidien gehörige Organismen aufgefunden haben.

Einige ergänzende Bemerkungen zu meinem Aufsatz „Der Syphiliserreger“ in Bd. XLIV. Heft 3—5 dieser Zeitschrift.

Von **J. Siegel.**

In der Deutschen medizinischen Wochenschrift No. 47 finde ich ein Referat über einen Vortrag in der Niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde in Bonn von Grouven, aus dem zunächst hervorgeht, daß ein okulargeimpftes Kaninchen als bemerkenswerte Symptome „auffallenden gleichmäßigen Haarausfall“ zeigte, ferner „erhebliche Beeinträchtigung des allgemeinen und Ernährungszustandes“ und schließ-

lich „am linken Nasenflügel eine borkenbedeckte Rhagade, die von einem deutlich scharf abgesetzten, gelblich oberflächlich schuppenden Infiltrat umgeben ist, Erscheinungen, die beim Menschen zur Diagnose eines papulösen Syphilids als Zeichen konstitutioneller Erkrankungen berechtigen würden".

Das ist also eine Bestätigung der von mir von jeher verfochtenen Ansicht, daß die Erkrankung der mit Syphilis geimpften Kaninchen nicht lokal ist und von Hauterscheinungen begleitet sein kann, was besonders Finger und Landsteiner nicht zugeben wollen.

Ferner sagt Grouven: „Erneut am 26. Juli 1907 angefertigte Ausstrichpräparate von einer inzwischen aufgetretenen ähnlichen Infiltration am rechten Nasenflügel (des Kaninchens) ergaben das Vorhandensein allerdings spärlicher einwandfreier Spirochaetae pall. in dem bluthaltigen Serum, ein Befund, der übereinstimmend von Herrn Geheimrat Doutrelepont und mir erhoben wurde. Es bedarf dieser Befund natürlich der Bestätigung durch die Schnittuntersuchung, da möglicherweise an eine äußerliche Uebertragung vom Bulbus aus gedacht werden konnte."

Aus diesen Sätzen geht hervor, daß Grouven das Vorkommen von Giemsa-Spirochäten auf der Oberfläche von Hautprodukten nicht ohne weiteres für einen Beweis für die syphilitische Natur der Fundstelle hält, weil die Spirochäten verschleppt sein könnten. Das stimmt mit meiner vielfach ausgesprochenen Ansicht überein, daß oberflächlich gefundene Spirochäten, die noch dazu von ubiquitär vorkommenden Saprophyten (z. B. sogenannten „mittleren Formen" der Mundspirochäten) sich nicht unterscheiden, keinerlei Bedeutung beanspruchen dürfen. Andererseits beweist das Gewicht, das Grouven auf die Schnittuntersuchung, also den Nachweis der Silberspirochäten legt, daß auch er ebenso wie Flügge und Benda die Silberspirochäten als die eigentlichen Beweismittel für die ätiologische Rolle der Spirochäten bei Syphilis erachtet. Gerade aber die Silbermethode zum Nachweise von Spirochäten habe ich als ganz unbrauchbar bewiesen.

Zwei andere hierhergehörige, soeben erschienene Arbeiten — Bab, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 46 und Gierke, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIV. Heft 4 — legen ein ganz besonderes Gewicht auf das Vorkommen von „Silberspirochäten" innerhalb von Zellen, und glauben, hiermit einen besonders überzeugenden Beweis für die Parasitennatur dieser Gebilde gefunden zu haben. Diesen Punkt habe ich bisher noch nicht eingehend gewürdigt, es sei daher mit einigen Worten der Wert eines intracellulären Vorkommens von Silberspiralen beleuchtet.

Solche intracellulären Spiralen können erstens Imprägnationen von vorgebildeten Plasmafibrillen sein, welche bei allen Zellarten beobachtet werden. Ein eingehendes Studium der histologischen Handbücher ergibt, daß Fibrillen nicht allein bei Epithelzellen beobachtet werden, worauf ich schon hingewiesen habe, sondern auch bei sämtlichen Bindegewebs- und Blutzellen. Ich will die Literatur hier nicht genauer anführen, weil diese kurzen Bemerkungen zu weit ausgedehnt würden. Doch sei darauf noch hingewiesen, daß auch die Eizellen, die von Spirochätenanhängern, besonders von Bab, als fibrillenfrei betrachtet werden, einen großen Reichtum von Fibrillen zeigen, was besonders bei den Eiern der niederen Tiere hervortritt. Eine deutliche Abbildung findet man in dem Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere von K. C. Schneider 1902.

Oefter aber als Imprägnationen von vorgebildeten Plasmafibrillen dürften die als „Silberspirochäten" beschriebenen Spiralen innerhalb der Zellen sich als einfache Reduktionsprodukte der Silberlösung entpuppen. Auf diese Entstehungsart von Spiralen habe ich schon in der Hauptarbeit hingewiesen, indem ich die Bemerkung von Rawitz zitierte, daß Brücke auf dem reinen Objektträger solche Gebilde produzierte. Ein eingehenderes Literaturstudium zeigt, daß solche Beobachtungen durchaus nicht einzeln dastehen, und ich möchte bei der Bedeutung, die in den letzten Jahren der Silberbehandlung als Mittel zur Darstellung von angeblichen Spirochäten beigemessen wird, die Aufmerksamkeit auf einen sehr interessanten Abschnitt in der Geschichte der histologischen Technik lenken, der zugleich ein lehrreiches Beispiel für die Geschichte menschlicher Irrungen darbietet.

Nachdem im Anfang der 60er Jahre v. Recklinghausen die schon 1844 zuerst von Krause empfohlene Silbertechnik in ausgedehntem Maße in Anwendung brachte, erhob sich sehr bald eine von einer großen Reihe von Forschern durchgeführte entschiedene Opposition gegen die bedenkenlose Verwertung der neuen Methode. Ich will nur einige Namen hervorheben und zugleich auf die Zusammenstellung von Hans Gierke in der Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie hinweisen, die bis zum Jahre 1884 geht. Unter denjenigen, die ihre Bedenken äußerten, finden wir die Namen Adler, Harpeck, Hartmann, His, Auerbach, Henle, Federn, Schwalbe, Feltz, Severin, Skortow, später noch Sehrwald (1887) und Kronthal (1892).

Harpeck und Hartmann erklärten die nach Silberpräparation auftretenden Zeichnungen in der Cornea, in dem Bindegewebe, im Epithel für Trugbilder, für künstliche Zeichnungen, die nicht vorgebildeten Elementen entsprächen. Der erstere glaubte, daß in der Cornea künstliche Spalten bei der Behandlung sich bildeten, die sich mit dem Silberniederschlage füllten. Der zweite hielt die netzförmigen Linien zwischen den Endothelzellen für eigentümlich geformte Niederschläge, die aus der Verbindung des Silbers mit Bestandteilen der organischen Gewebe, Chloralkalien und Albuminaten entständen. Hartmanns Figuren der auf nackten Objektträgern gebildeten Niederschläge (Arch. f. Anat. 1864) zeigen zum Teil Spiralen, die Spirochäten nicht unähnlich sehen. Er kommt zu folgenden Schlußfolgerungen:

„Die Anwendung von Silberlösungen sollte aber bei mikroskopischen Forschungen möglichst vermieden werden, weil die stets zugleich auftretenden Niederschläge die natürliche Beschaffenheit der Gewebe durch Verdecken unkenntlich machen; ein andermal, weil diese Niederschläge Formen zeigen, die organischen Gebilden mehr oder weniger gleichen und deswegen die Basis zu einer ganz unberechenbaren Menge von Irrtümern eröffnen" (von mir gesperrt. Verf.).

Schwalbe (Arch. f. mikrosk. Anat. 1869) sagt: „Die schwarzen Netze treten äußerst schnell bei der Berührung der betreffenden Gewebe mit der Silbernitratlösung auf und verdanken ihre Entstehung wahrscheinlich einer Reduktion der Silberverbindung durch die auf der Oberfläche der Membran befindliche dünne Flüssigkeitsschicht, die sich in den Furchen zwischen den Zellgrenzen am reichlichsten vorfindet."

Feltz (Journ. Anatomie 1874) meint:

„Je suis loin de vouloir rejeter d'une manière absolue le nitrate d'argent comme moyen de préparation des épithéliums, je veux simplement

ne pas accorder une valeur exagérée à ce que je considère comme de simples accidents d'opération."

Es bleibt also bei der von mir und meinen Mitarbeitern immer verfochtenen Ansicht, daß die Silbermethode zum Nachweise von Spirochäten zu verwerfen ist.

Soll die Spirochäte als Erreger der Syphilis überhaupt in Betracht kommen, so müßten zunächst folgende Forderungen erfüllt werden: Es müßten im Blute von Erwachsenen mit acquirierter Syphilis bei Ausschluß sekundärer Bakterieninvasion (also nicht zu berücksichtigen sind Blutpräparate von syphilitischen Neugeborenen, die fast ohne Ausnahme septisch infiziert sind) und ganz besonders in den Organen und im Blute von infizierten, frisch getöteten, sonst vollkommen bakterienfreien Affen mit einer gewissen Regelmäßigkeit zweifellose, mit Giemsa-Farbstoff nachweisbare Spirochäten gezeigt werden.

Erst wenn diese unerläßliche Bedingung erfüllt ist, würde die Spirochätenfrage in das Stadium der Erörterung ihrer ätiologischen Bedeutung treten. Bekanntlich sind die Anforderungen, die man an den Nachweis der Erregernatur eines Parasiten stellen muß, wesentlich erhöht, nachdem die Entdeckung gemacht wurde, daß der Schweinepestbacillus, der viele Jahre als so gut legitimierter Erreger galt, nichts als ein sekundär eingewanderter Begleiter des Krankheitsprozesses ist. Bei der Spirochaeta pall. blieben noch so manche unauflösbare Widersprüche zu erledigen, z. B. die Schädigung des Bakteriums durch Glycerin bei gleichzeitiger Feststellung, daß Glycerin das beste Konservierungsmittel für den Syphiliserreger ist u. s. w.

Aber alles das kommt vorläufig noch gar nicht zur ernsthaften Diskussion, solange die oben skizzierten einfachsten Forderungen nicht erfüllt sind.

Zusatz während der Korrektur:

Seit der Niederschrift vorliegender Bemerkungen liegen ganz im Gegensatz zu der vorhergehenden Zeit nur sehr wenige neue Veröffentlichungen über die Spirochaete pall. vor.

Die Referate von Finger (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 1) sowie von Oppenheim (Med. Klin. 1908. No. 6) berücksichtigen die neueren Einwände gegen die Spirochätenhypothese noch nicht, da sie anscheinend vor längerer Zeit abgefaßt sind.

Dagegen ist eine Veröffentlichung von Levaditi und Intosh (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1907. No. 10) sehr bemerkenswert.

Den Autoren gelang die Kultur der Spirochaete pall. in Kollodiumsäckchen, aber: „nous avons constaté que l'inoculation de notre microbe par scarification cutanée, pratiquée à deux macacus cynomolgus et à un chimpanzé, n'a été suivie d'aucune manifestation syphilitique locale. Les animaux ayant été soumis à l'observation pendant un temps très long (71 et 88 jours pour les macaques et 42 jours pour le chimpanzé) on peut conclure que le treponème des cultures est complètement dépourvue de virulence".

Wenn ich auch nicht der Ansicht bin, daß die Unwirksamkeit einer Kultur genügt, um dem Bakterium jegliche ätiologische Bedeutung abzusprechen, so möchte ich doch darauf hinweisen, daß dieses Moment neben so vielen anderen Gründen gegen die Spirochaete pall. schwer ins Gewicht fällt. Bei anderen kultivierbaren Hautsaprophyten jedoch, die als Syphiliserreger proklamiert waren, hat man das Ausbleiben einer positiven Impfung immer als ausreichenden Grund zu ihrer Ablehnung angesehen.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Silberspirochäte.

[Aus dem anatomischen Institut des Hafenkrankenhauses in Hamburg (Prosektor: Dr. Fahr).]

Von Dr. O. **Meyer**, Assistenten des Instituts.

Wiewohl Simmonds[1]) schon kurz nach der Bekanntgabe der Silberimprägnation der Spirochaeta pallida durch Levaditi an Hand eines großen Materials mit fast positiver Sicherheit berichten konnte, daß das Vorhandensein von Spirochäten bei syphilitischen Föten und Kindern etwas so Konstantes sei, daß man aus ihrem Vorhandensein schon die Diagnose Lues stellen könne, während bei mazerierten Föten nicht luetischen Ursprungs die Spirochäten stets fehlten, und obwohl später noch eine Menge Autoren (Benda, Hoffmann, Lassar, Orth, Schindler, Blaschko)[2]) diese Befunde in jeder Richtung bestätigten, so wird trotzdem von Saling[2]) und Siegel[2]) mit großer Entschiedenheit daran festgehalten, daß die Silberspirochäten nichts weiter sind als Zerfallsprodukte von Nervenfasern, Bindegewebe, elastischen Fasern.

In neueren Arbeiten[3]) sucht Siegel mit großer Bestimmtheit die Fibrillennatur der Silberspirochäte zu beweisen. Als Beweis für seine Behauptungen wird angeführt der Nachweis der Spirochäten in dem Schweinefötus von Justyn Karliński, welchen Saling[4]) in der Berl. mediz. Gesellschaft am 13. März 1907 vorstellte, von dem Hoffmann sagte: „In diesem Präparat fanden sich im Lumen eines Gefäßes Gebilde, die meiner Ansicht nach zweifellos als von der Spirochaeta pallida im Silperpräparat nicht unterscheidbare Spirochäten gedeutet werden müssen.“ Die der Arbeit Salings beigelegten Photogramme zeigen allerdings das Aussehen der Spirochäte, und man muß zugeben, daß die Deutung dieses Falles für den, der auf dem Boden der Schaudinnschen Anschauung steht, einstweilen auf Schwierigkeiten stößt und noch einer befriedigenden Erklärung harrt. Ein weiterer Beweis für die Nichtidentität der Silberspirochäte und der nach Giemsa färbbaren Spirochaeta pallida erblicken Siegel und Saling in dem Umstand, daß es bisher so selten gelungen ist, die Spirochaeta pallida im Schnitt zu färben. Wer weiß, wie schwer eine Spirochäte im dünnen Ausstrich zu sehen ist, der wird auch verstehen, wie außerordentlich schwierig es sein wird, in einem Gefrierschnitt, wie Schmorl[5]) es angibt, die Spirochäten zu finden. Trotzdem ist es Schmorl in 2 Fällen gelungen, und Hoffmann konnte derartige Präparate in der Berl. med. Gesellsch. am 8. Mai 1907[6]) demonstrieren. Und Benda[7]) konnte die Spirochäten nach Bertarelli auf dem Deckglas mit Giemsa-Färbung nachweisen. Ebenfalls erklärt Orth[8]), daß in den Silberpräparaten dieselben Spirochäten zu sehen sind, welche mit Giemsa-Lösung färbbar sind.

---

1) Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 27.
2) Verhandlungen der Berl. med. Gesellsch.; Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 7, 10, 11.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. Heft 3—5.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 4.
5) Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 22.
6) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 20.
7) Berl. med. Gesellsch.; Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 11.
8) Berl. med. Gesellsch.; Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 11.

Ferner meint Siegel[1]), der Umstand, daß die „Silberspirochäte“ noch nicht bei Neugeborenen gefunden sei, die länger als einige Wochen gelebt hätten, beweise ihr Entstehung aus Mazerationsprodukten. Allerdings scheint er dabei übersehen zu haben, daß Simmonds[2]) bei 12 Lues hereditaria-Fällen — Kindern im Alter von 18 Monaten bis 4 Stunden — mit positivem Erfolge die Spirochaeta pallida nachgewiesen hat. Ein gleiches Resultat hatte Bab[2]) bei der Untersuchung von 64 Fällen (Föten und Kindern). Nur wenn Lues vorlag, hat er auch Spirochäten gefunden.

Um nun auch experimentell den Nachweis zu liefern, daß die Spirochäten nur Mazerationsprodukte seien, hat Siegel[3]) 30 Schweineföten und einige Kinderföten künstlich mazeriert. Jedoch war der Erfolg vollkommen negativ. Er erklärt es damit, daß es bei künstlicher Mazeration vom Zufall abhinge, ob man immer den richtigen Grad der Gewebslockerung trifft, damit die Silberspiralen zum Ausdruck kämen. Nun ist es an sich schon auffällig, daß unter 30 Fällen kein einziger Fall im richtigen Mazerationsmoment untersucht wurde. Wie aber ist es zu erklären, daß bei anderen Autoren nur die syphilitischen Föten gerade im geeigneten Moment zur Untersuchung kamen? Denn ein in utero abgestorbener und mazerierter Fötus, syphilitisch oder aus anderen Ursachen, zeigen äußerlich dasselbe Bild. Und auch mikroskopisch erscheint das Organgewebe der syphilitischen wie der nicht syphilitisch mazerierten Föten meist in gleichem Grade gelockert, und es ist nicht, wie Saling[4]) meint, daß in ersterem Falle durch den schweren Krankheitsprozeß eine besonders starke Lockerung stattfindet.

Die überwiegende Mehrzahl der Autoren hat denn auch die Einwände von Siegel und Saling als nicht stichhaltig zurückgewiesen und hält nach wie vor daran fest, daß die Silberspirochäte mit der Giemsa-Spirochäte identisch ist. Aber trotz der Fülle des in diesem Sinne mitgeteilten Materials dürfte es doch angezeigt sein, immer weiter an möglichst zahlreichen Fällen Untersuchungen anzustellen, denn wenn Siegel und Saling recht hätten, müßte es doch an einem großen Material ab und zu gelingen, auch einen nicht luetischen Fötus zu finden, der einen Parallelfall zu dem Karlińskischen Schweinefötus darstellte und Silberspirochäten enthielte.

Ich habe das Material des Hafenkrankenhauses in Hamburg in diesem Sinne etwa 6 Monate bearbeitet, bin aber dabei wieder genau zu denselben Schlüssen wie Simmonds[5]), Bab[6]), Gierke[7]), Schlimpert[8]), Dohi[9]) u. A. gekommen. Ich untersuchte 29 Föten nach Levaditis alter Methode, und zwar stets: Lunge, Niere, Leber, Nebenniere, Darm und Milz. Sodann aber noch Herz, Pankreas, Geschlechtsorgane, Knochenknorpelgrenze etc. Unter meinen 29 Fällen waren 18 Fälle in allen Stadien der Mazeration, zum Teil vereinzelt post partum noch nachgefault, die keinerlei anatomische Anhaltspunkte für Lues boten, und in sämtlichen Fällen fiel der Nachweis von Spirochäten in jeder Beziehung negativ aus.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. Heft 5.
2) Berl. med. Gesellsch. vom 27. Febr. 1907; Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 10.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. Heft 3.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 4.
5) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 27.
6) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 10; Berl. med. Gesellsch.
7) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 4.
8) Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 26.
9) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 3.

Bei 6 Fällen war eine ausgesprochene Osteochondritis syphilitica ohne sonstige besonders ausgesprochene Organveränderung (wie Feuersteinleber, weiße Pneumonie, Milzschwellung, Pancreatitis interstitialis etc.) nachzuweisen, und entsprechend wurden auch in den inneren Organen überall reichlich Spirochäten gefunden.

Bei 2 Fällen konnte eine sehr geringe Osteochondritis festgestellt werden. Demzufolge war auch der Nachweis von Spirochäten in dem ersten Falle nur in vereinzelten Organen (Leber, Niere, Darm, Milz, Nebenniere) möglich, während ich in dem zweiten Falle nur in der Milz Spirochäten fand. Bemerkenswert sind 3 weitere Fälle (F. R. 38. S. N. 744, 783). Hier fanden sich makroskopisch an den Organen und an der Epiphysenlinie keine Veränderungen, auch ließ sich leider nicht feststellen, ob die Mutter luetisch gewesen war, und doch fanden sich in den inneren Organen deutlich Spirochäten. Leider hatte ich es verabsäumt, in den 2 ersten Fällen die Epiphysenlinie mikroskopisch zu untersuchen. Als ich jedoch den dritten Fall mikroskopisch untersuchte, fand sich an der unteren Femurepiphysenlinie eine beginnende Osteochondritis. Es zeigte sich eine ganz geringe Verbreiterung der Verkalkungszone, die spärlich kleine, zackige Vorragungen in die Knorpelwucherungszone hineinsendet. Ebenso waren mikroskopisch auch Unterbrechungen in der scharfen Epiphysenlinie in Gestalt von kleinen Wucherungen der Markraumbildung in die Verkalkungszone zu erkennen. Es ist also ebenso, wie in Fraenkels Falle[1]), wo der Nachweis der Osteochondritis auch nur durch das Mikroskop zu erbringen war.

Die Gegner der Spirochätentheorie könnten nun sagen, daß hier 2 Fälle vorhanden seien, bei denen Spirochäten bei nicht syphilitischen Föten, wenigstens beim Fehlen von makroskopisch sichtbaren Veränderungen gefunden wurden. Aber es könnten ja sehr wohl, wie in dem dritten Fall, mikroskopisch Veränderungen vorhanden gewesen sein — man wird also künftighin auf diesen Punkt wohl achten müssen. — Doch wenn auch die mikroskopische Untersuchung negativ ausgefallen wäre, mußte man immerhin noch folgende Erwägung anstelllen: Steht man auf der Basis der Schaudinnschen Anschauung, so wird man sich vorstellen, daß das Primäre bei der Entwickelung der Lues hereditaria die Infektion des Fötus mit Spirochäten ist und daß weiterhin unter dem Einfluß der Spirochäteninvasion die mikroskopisch sichtbaren Veränderungen bei der hereditären Lues wie Osteochondritis, syphilitische Feuersteinleber, syphilitische Pneumonie etc. allmählich zustande kommen. Es wird uns also nicht wunder nehmen können, wenn wir gelegentlich Fälle finden, bei denen wohl die Spirochäteninvasion zustande gekommen ist, ihre anatomischen Folgen aber noch keine Zeit zu ihrer Entwickelung gefunden haben.

Jedenfalls, wenn wir das Resumé unserer Untersuchungen ziehen: 18 mazerierte nicht luetische Föten in allen erdenklichen Stadien der Mazeration völlig frei von Spirochäten, 8 luetische Föten mit positivem Befunde, so wird es einem recht schwer, mit Siegel und Saling an die Fibrillennatur der Silberspirochäte zu glauben, und man wird sich leichter entschließen, die 3 zweifelhaften Fälle in dem oben ausgeführten Sinne zu deuten, zumal in dem einen Falle die Fähigkeit dieser Deutung durch die mikroskopische Untersuchung sich erweisen ließ.

Zum Schluß gestatte ich mir noch, meinem Chef, Herrn Prosektor Dr. Fahr, meinen Dank für die Ueberlassung des Materials und die liebenswürdige Unterstützung auszusprechen.

1) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 32.

Der Kuhpockeninfektion eigentümliche bewegliche Körperchen im Epithel der Kaninchencornea[1]).

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Turin (Leiter: Prof. Luigi Pagliani).

Von Prof. Dr. **G. Volpino.**

Mit 1 Figur.

Das Studium der Kuhpocken vom ätiologischen Standpunkt aus hat bisher noch nicht zu einer genauen Kenntnis geführt, trotz der großen Anzahl und der Tüchtigkeit der Forscher, die sich ihm gewidmet haben. Immerhin aber muß anerkannt werden, daß auch auf diesem Gebiete wichtige Entdeckungen gemacht worden sind, die jedem, der von neuem auf dieses Studium einzugehen wünscht, als Ausgangspunkt dienen können.

Unsere Kenntnisse bezüglich des Kuhpockengiftes erstrecken sich einerseits auf die Guarnierischen Körper und ihre spezifische Natur (in dieser Hinsicht bestehen wohl in der Wissenschaft keine Zweifel mehr), andererseits auf die nunmehr ebenfalls erhärtete Tatsache der Filtrierbarkeit des Virus, was hauptsächlich den Forschungen von Casagrandi und Negri zu verdanken ist.

Einen weiteren Fortschritt hatte neuerdings Prowazek zu verzeichnen, dem es gelang, den zwischen den Guarnierischen Körpern und anderen gleichfalls spezifischen, von ihm Initialkörperchen genannten kleinen Endocellulärgebilden bestehenden Zusammenhang nachzuweisen. Diese letzteren kleinen Körperchen waren allerdings schon früher von Gorini gesehen und weiterhin von Bosc beschrieben worden, aber Prowazek hat sie eingehender untersuchen und dabei wahrnehmen können, daß sie sich als ovale oder längliche Gebilde von $1-1^1/_2$ μ Länge darstellen und von einem Hofe durchsichtiger Substanz umgeben sind. In Klatsch- oder Ausstrichpräparaten sind sie sehr gut frei im Protoplasma sichtbar, wenn mit Giemsa-Lösung gefärbt, während ihre Darstellung im Schnitt sehr schwierig ist. Der gleiche Verf. hat sie in den zentralen Teilen der Guarnierischen Körper sehen und daraus schließen können, daß letztere demnach als Reaktionsprodukte der Zellen gegen die Initialkörperchen aufzufassen sind.

Prowazek ist weiterhin bezüglich der Kuhpocken zu ähnlichen Schlußfolgerungen gekommen, wie ich sie hinsichtlich der Tollwut veröffentlicht hatte.

Trotz ihrer unbestreitbaren Bedeutung für das Studium des Krankheitserregers der Kuhpocken entsprechen jedoch diese Tatsachen noch nicht vollständig der genauen Kenntnis des Virus vaccinicum selbst.

Nun bin ich zwar ganz der Ansicht von Anna Foà und Prowazek, daß nämlich die Guarnierischen Körper in ihrer Morphologie und ihrem Verhalten durchaus nicht bekannten Parasiten- und Protozoenformen entsprechen und ebensowenig dem Virus vaccinicum wegen der Verschiedenheit in dem Widerstand gegen die chemischen Agentien, die von den genannten Autoren selbst für das Virus und die Guarnierischen Körper nachgewiesen worden sind; ebensowenig aber scheint mir die Annahme richtig, daß die Initialkörperchen für sich allein das Virus selbst darstellen.

---

1) Der Kgl. Med. Akademie zu Turin mitgeteilt in der Sitzung vom 22. November 1907. — Mit Vorlegung von Präparaten.

Sie entsprechen wahrscheinlich besonderen Lebensformen des Kuhpockenparasiten, wenn man die verhältnismäßige Spärlichkeit des Befundes einerseits und die bedeutende Infektionskraft des Virus andererseits berücksichtigt.

Von diesen Voraussetzungen geleitet, habe ich es für der Mühe wert gehalten, in den Forschungen fortzufahren. Bestärkt wurde ich in meinem Vorhaben auch durch die glänzenden Ergebnisse, die in der Mikrobiologie mit dem neuen mikroskopischen Untersuchungsverfahren mittels Dunkelfeldbeleuchtung erzielt worden sind. Dank der großen Leichtigkeit der Untersuchung, wie sie mit den einfachen technischen Hilfsmitteln erreicht wird, hat diese Methode tatsächlich im Gebiet der mikrobiologischen Forschung siegreich ihren Einzug gehalten, und zwar wegen der schnellen Auffindbarkeit der Spirochaete pallida in Syphilisprodukten zu klinischen Zwecken (Hoffmann). Objekte, die auch mit den stärksten Linsensystemen kaum erkenntlich werden oder auch ganz unsichtbar bleiben, werden mittels der Dunkelfeldbeleuchtung auch bei Verwendung eines mittelstarken Objektives (z. B. No. 5 Koristka) und eines Kompensationsokulars No. 12 oder No. 18 sichtbar gemacht. Außerdem wird mit diesem System die Form des Bildes nicht verändert, welches vollständig treu herauskommt, was einen großen Fortschritt gegenüber dem ursprünglichen Ultramikroskop Zigmondis und Siedentopfs bedeutet.

Als Untersuchungsmaterial habe ich von vornherein die mit Kuhpockengift verschiedener Herkunft geimpfte Kaninchencornea gewählt. Es ist ja durch die von allen Seiten bestätigten Untersuchungen Guarnieris tatsächlich bekannt, daß sich auf der Hornhaut des Kaninchens eine vaccinische Infektion mit typischem Befunde entwickelt; zudem ist die mikroskopische Untersuchung außerordentlich erleichtert durch die Beschaffenheit des Gewebes selbst und durch das Wesen des sich dort abspielenden pathologischen Prozesses. Da ich außerdem frische Präparate herstellen mußte, um sie der Dunkelfeldbeleuchtung zu unterwerfen und darin aller Wahrscheinlichkeit nach äußerst kleine Elemente aufzusuchen, hatte ich in diesem Gewebe ein sehr geeignetes Material, wegen der Leichtigkeit, mit der es sich in Fetzchen abreißen und in die einzelnen Bestandteile zerlegen läßt. Weiter habe ich mich zur Infizierung der Hornhäute des gewöhnlichen in Glycerin gereinigten Kuhpockenimpfstoffes bedient, der mir durch die Liebenswürdigkeit der Herren Professoren Abba, Belfanti und Kolle aus den Impfstofferzeugungsstationen in Turin, Mailand und Bern zur Verfügung gestellt wurde. Sämtliche drei Impfstoffe haben sich ausgezeichnet bewährt zur Hervorrufung der typischen Infektion auf der Kaninchenhornhaut mittels der Methode der leichten Oberflächenritzung. Die Infektionserscheinungen begannen in der Regel nach 24 Stunden aufzutreten, um etwa in der 70. Stunde ihren Höhepunkt zu erreichen.

Ich entnahm aus der infizierten Hornhaut ganz kleine Epithelfetzen, indem ich dieselbe mit der Klinge eines Bistouri schabte, und brachte sie auf das Objektträgergläschen in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung oder eventuell auch in einem Tropfen des humor aqueus des Kaninchens. Wenn nötig, zerfaserte ich mit den Nadeln diese Fetzchen, um isolierte Zellen oder wenigstens kleinere Zellengebiete zu erhalten und so die Untersuchung zu erleichtern. Dann setzte ich ein Gläschen darüber und ging an die Untersuchung. Die Dunkelfeldbeleuchtung wird durch Einsetzung einer $2^1/_2$ cm im Diameter messenden Blende mit

blindem Grund unterhalb des Kondensors erzielt oder auch durch Verwendung eines zweilinsigen Kondensors (Koristka) und Einschiebung eines zentralen Scheibchens aus schwarzem Papier zwischen der oberen und der unteren Linse des Kondensors. Als beste Lichtquelle habe ich eine gute Gasglühlampe herausgefunden, womit ich tatsächlich mittels eines einfachen, zwischen die Lichtquelle und das Mikroskop eingeschobenen durchlochten Schirmes ein gutes Strahlenbündel erhielt, das den Mikroskopspiegel vollständig ausfüllte, während der Tisch des Mikroskops dunkel bleibt. Das angewandte Linsensystem bestand gewöhnlich aus dem Objektiv No. 5 Koristka und dem Kompensationsokular No. 12 oder No. 18.

Bei diesem Verfahren treten in den frischen Präparaten von normalem Hornhautepithel, die in einem Tropfen physiologischer Lösung durch einfache Schabung oder Zerreißung zubereitet werden, die Zellenelemente des Epithels mit den hellen Konturlinien deutlich auf dem schwarzen Grunde hervor, während das Protoplasma nur ganz spärlich beleuchtet wird oder zuweilen auch ganz dunkel bleibt, und von dem Kern hebt sich ganz besonders die Membran, dank dem intensiveren Lichtes, ab. Bisweilen jedoch enthält das Protoplasma oder eventell auch der Kern Körnchen oder mehr oder minder leuchtende und umfangreiche, vollständig unbewegliche Teilchen.

Ganz verschieden ist hingegen das Bild, wenn mit dem gleichen Verfahren aus der vaccinierten Kaninchenhornhaut entnommenes Epithel untersucht wird. Viele Zellen erscheinen größer als normal, oft auch rundlicher und, besonders wenn die Entnahme des Materials zwischen der 40. und 70. Stunde nach der Impfung erfolgt, schließen viele von ihnen eine mehr oder minder große, aber immer beträchtliche Menge von zarten Körperchen ein, die sich mit großer Schnelligkeit bewegen.

Was dem Beobachter sofort auffällt, ist die außergewöhnliche und gleichheitliche Kleinheit dieser beweglichen Elemente, der Charakter der Bewegung, ihre besondere Helligkeit, die Menge und die Lagerung im Zelleninneren und im mikroskopischen Präparat.

1. Kleinheit: Sie ist geradezu extrem. Meist sind diese Körperchen kaum noch sichtbar, auch wenn sie, wie das gewöhnlich der Fall ist, im Zelleninneren sich zu verhältnismäßig voluminösen Anhäufungen vereinigen. Sie gehen wohl nie über $^{2}/_{10}$ μ hinaus, so daß es sehr schwer hält, genaue Angaben über ihre Form zu machen. Es sind kleine leuchtende Punkte, die sich mit großer Schnelligkeit verschieben. Wenn sie nun gar, wie in einigen Zellen beobachtet wird, nicht Anhäufungen bilden, wo sie in großer Anzahl auf beschränktem Raum dicht beieinander liegen, sondern in verhältnismäßig spärlicher Zahl im Protoplasma zerstreut sind (z. B. in einer großen Vakuole des Zellenkörpers), lassen sie sich nur schwer wahrnehmen und können erst nach längerer Beobachtung klar gesehen werden.

Wenn man eine Stelle des Präparates fixiert, indem man eine solche Körperchen enthaltende Zelle in den Mittelpunkt des mikroskopischen Feldes bringt und wenn man dann die Blende vom Kondensor abnimmt, also das Mikroskop in seine gewöhnlichen Verhältnisse zur Untersuchung bei diffusem Tageslicht bringt, so kann man bei Verwendung der stärksten Vergrößerungen und einer wohlbemessenen Beleuchtung (Apochromat Zeiß 2 mm, Apert. 1,30, Kompens.-Okular No. 12, Rohrlänge 160 mm) diese Körperchen noch sehen, wenn schon mit Schwierigkeit; ganz unsichtbar aber bleiben sie, wenn sie in nur verhältnismäßig spärlicher

Anzahl im Zelleninnern zerstreut liegen. Aus diesem Grunde vielleicht sind sie bisher der Aufmerksamkeit der Beobachter entgangen.

2. Beweglichkeit: Die extreme Kleinheit und die bemerkenswerte Beweglichkeit sind die zwei wichtigsten Kennzeichen dieser Körperchen, Kennzeichen, die allein hinreichen, um sie von allen Granulargebilden, die eventuell sich in den Zellen des Hornhautepithels vorfinden können, zu unterscheiden.

Interessant ist der Grad und das Wesen der Bewegung.

Was den Grad der Beweglichkeit anbelangt, so habe ich schon hervorgehoben, daß es sich um sehr lebhafte Bewegungen handelt. Allerdings gibt es Zellen des Tierorganismus, die auch in normalem Zustande Granulargebilde aufweisen, die sehr starke Brownsche Bewegung zeigen: es sind das einige Leukocytenformen. Aber hier handelt es sich um eine noch raschere und nicht nur pendelnde Bewegung. Außerdem unterscheiden sich die beweglichen Granulationen der Leukocyten von den genannten Körperchen durch ihre beträchtlichere Größe, ihre geringere Einheitlichkeit in den Durchmessern, durch die Eigenschaft, lebhafter beleuchtet zu erscheinen, und zwar mit einem ins Gelbe spielenden Lichtton, und endlich durch ihre gleichmäßige Verteilung im Protoplasma[1]).

Wenn man aber die Anhäufungen der beweglichen Körperchen in der Kuhpockeninfektion untersucht, nimmt man eine Wirbelbewegung in den Anhäufungen selbst wahr, ohne daß eine deutliche Unterscheidung der Art der in ihnen sich vollziehenden Bewegungen möglich wäre. Unterwirft man aber diejenigen Zellen der Untersuchung, die eine kleinere Anzahl von Granulargebilden aufweisen, welche sich also in einem verhältnismäßig weiten Raum bewegen, und wartet man die allmähliche Verlangsamung der Bewegungen ab, so sieht man, daß die Bewegungen verschiedene sind. Jedes Körnchen hat eine einfache pendelnde Bewegung, die sich auf kleinem Spielraum, aber mit bedeutender Schnelligkeit vollzieht, und außerdem eine minder schnelle Ortsbewegung von einem Punkt der Zelle zum anderen, die von der ersten unabhängig ist. Ich habe lange Zeit hindurch Zellen beobachten können, die eine große, oft den ganzen Zellkörper einnehmende Vakuole aufwiesen. Innerhalb dieser weiten Räume befanden sich 10—15 bewegliche Körperchen. In diesen Fällen sah man die Körperchen sich von einem Punkt der Zellwandung losreißen, um den Innenraum in mehr oder minder gewundenen Bewegungen zu durchqueren, gegen eine andere Stelle der gleichen Wand zu schlagen und dann gegen die andere Wand vorzurücken. So kreuzten sie sich in verschiedenen Richtungen, stießen wohl auch aufeinander. Bisweilen blieben sie unbeweglich, wie an die Zellwand geklebt, oder es blieben auch einige in der Mitte pendelnd stehen und nahmen dann ihre Ortsbewegung wieder auf.

Das Ganze machte den Eindruck eines hängenden, mikroskopischen Tropfens, der eine Kultur von Typhusbacillen oder Vibrionen enthält.

Besagte Bewegungen wurden übrigens nicht nur von mir, sondern auch von den unser Institut frequentierenden Aerzten beobachtet, sobald das Auge an die Wahrnehmung so kleiner Teilchen gewöhnt war.

Es handelt sich demnach um eine Eigenbewegung, während die Zelle mit der Hervorrufung derselben nichts

1) Soviel bekannt und soviel ich selbst neuerdings mittels der Dunkelfeldbeleuchtung habe feststellen können, sind die Leukocyten (polynuklearen Speichelkörperchen) die einzigen Tierzellen, die bewegliche Granulationen enthalten.



zu tun hat, wie auch aus den zahlreichen Kontrollversuchen hervorgeht, über die ich weiterhin ausführlicher sprechen werde und mit denen festgestellt werden konnte, daß weder in normalem Zustande noch bei verschiedenen anderen pathologischen Prozessen bewegliche Körperchen in dem Hornhautepithel aufgefunden werden, welches doch häufig mehr oder minder zahlreiche, bisweilen auch sehr zarte unbewegliche Körnchen enthält.

3. Helligkeit: Einzeln betrachtet, erscheinen diese Körperchen bei Dunkelfeldbeleuchtung nur wenig stark leuchtend, und durch diese Eigenschaft unterscheiden sie sich noch weiterhin von den meisten anderen Körnchen des Präparates. Infolge dieser spärlichen Leuchtkraft und der extremen Kleinheit fällt daher ihre Wahrnehmung sehr schwer, wenn sie in geringer Anzahl vorhanden und im Zellkörper verstreut gelagert sind. Wenn sie hingegen in den charakteristischen Anhäufungen vereinigt sind, so strahlt ihr Ganzes ein ziemlich helles und vollkommen weißes Licht aus; auch das stellt ein ihnen eigentümliches Merkmal dar, denn die anderen Granularelemente des Präparates geben ein mehr gelbliches Licht.

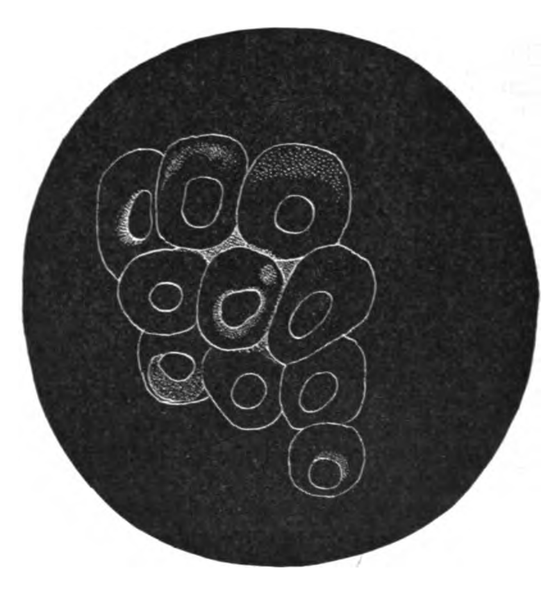
4. Menge. Die genannten Körperchen können schon gegen die 30. Stunde nach der Impfung in den Zellen wahrgenommen werden. In dieser Periode jedoch sind sie meistens wenig zahlreich in den einzelnen Zellen, und auch die Anzahl der Zellen, die welche enthalten, ist gering. Von der 48. bis zur 70. Stunde dagegen bilden sie innerhalb der Zellen umfangreiche Anhäufungen und auch die Zahl der solche Ansammlungen enthaltenden Zellen ist groß.

Sie waren jedesmal zahlreicher, wenn eine rein vaccinische Reaktion auf der Hornhaut hatte hervorgerufen werden können, während ich sie in weit spärlicherer Anzahl vorfand, so oft sich der Vaccinreaktion Entzündungserscheinungen zugesellten, die von anderen Ursachen abhingen, wie z. B. von den möglichen Verunreinigungen des Impfstoffes. Der Impfstoff aus Bern, den mir Herr Prof. Kolle liebenswürdigerweise geliefert, ergab immer den reichlichsten Befund, und ist die große Reinheit dieses Impfstoffes zu rühmen.

5. Lagerung innerhalb des Zellkörpers und im Präparat: Mit der größten Klarheit werden besagte Körperchen im Innern der Epithelzellen wahrgenommen, wo sie meistens, wie ich schon ausgeführt, im Protoplasma Anhäufungen von oft bedeutendem Umfang bilden. Diese Anhäufungen haben verschiedene Anordnung. Zuweilen liegen sie an der Peripherie des Protoplasmas, ganz in der Nähe der Zellenkontur; andere Male hingegen sind sie gerade in der Mitte des Zellkörpers isoliert oder sie sind auch rings um den Kern in Kontakt mit der Kernmembran angeordnet, die sie auf einer Seite umgeben. Diese Lagerungen könnten die Anwesenheit einer die einzelnen Anhäufungen umschließenden Membran vermuten lassen. Die Membran ist jedoch nicht vorhanden, denn die Körperchen können auch von einer Stelle des Protoplasmas zur anderen wandern und sich darin zerstreuen, so daß die Anhäufung verschwindet, wie auch das Gegenteil eintreten kann. Eine weitere merkwürdige Erscheinung besteht in der Verschiebung der Anhäufungen als Ganzes von einem Punkt des Zellkörpers zum anderen und in der langsamen Formveränderung der Anhäufungen selbst. Nicht selten kann man ferner beobachten, daß die Körperchen, wenigstens bisweilen, in den Vakuolen der hydropischen Zelle enthalten sind.

Diese Körperchen finden sich nicht nur innerhalb der Zellen; tatsächlich hatte ich Gelegenheit, in besonders günstigen Fällen sie auch in den intercellulären Zwischen-

räumen zu sehen. Hingegen konnte ich bisher nicht ihr Vorhandensein in der Präparatflüssigkeit feststellen, wo sie doch aller Wahrscheinlichkeit nach sich finden müssen; aber vielleicht ist es unmöglich, sie inmitten von Körnchen jeder Art und Größe, die man in der Flüssigkeit leuchten und tanzen sieht, zu erkennen.



Der bisher beschriebene Befund ist in seinen grundlegenden Merkmalen nicht nur konstant, sondern auch spezifisch für die Vaccineinfektion.

Letztere Behauptung stützt sich auf das völlig negative Ergebnis aller bisherigen Kontrolluntersuchungen, die eventuelle analoge Tatbestände im normalen oder einer anders gearteten Reizung unterworfenen Hornhautepithel aufdecken sollten.

Anmerkung: Ich habe 5 normale Corneen untersucht und 8 mit Diphtheriegift gereizte, wobei ich die Untersuchung zu verschiedenen Perioden der Prozeßentwickelung vornahm; außerdem 2 Hornhautabscesse, von denen der eine durch Impfung mit staphylokokkenhaltigem Material, der andere durch subepitheliale Einführung von Luftstaub hervorgerufen war, wobei außer dem zentralen Teil auch die Wandungen dieser Abscesse und das umstehende Epithel untersucht wurden; ferner 1 durch heiße, auf das Epithel zerstäubte Ammoniakdämpfe gereizte Hornhaut; 3 lediglich mit dem Bistouri geritzte Hornhäute, wobei die Prüfung 12, 24, 48 Stunden nach der Läsion vorgenommen wurde; 1 Hornhaut mit Syphilisgift geimpft, in der Zeit der vollen Entwickelung der Infektion, 2 lediglich mit glühender Nadelspitze versengte Hornhäute, nach 8 bezw. 14 Stunden. Das Ergebnis aller dieser Versuche war immer gleichlautend und durchaus negativ bezüglich der Anwesenheit von Körperchen, die den bei der Kuhpockeninfektion beschriebenen ähnlich sein könnten.

Anmerkung: In allerletzter Zeit ist es mir geglückt, diese äußerst zarten Körperchen auch in fixierten und gefärbten Präparaten darzustellen. Man bereitet aus der infizierten Corneaoberfläche (am 3. Tage) Klatsch- und Ausstrichpräparate und fixiert sie sofort, ohne vorherige Trocknung, in alc. abs. Dann wird ungefähr 24 Stunden lang mit stark verdünnter Giemsa-Lösung (1 oder 2 Tropfen der fertigen Lösung auf 15 ccm Wasser) gefärbt. Die Körperchen erscheinen schön rot-violett gefärbt, während sie ihre charakteristische Anordnung im Protoplasma der Epithelzellen beibehalten. Es handelt sich um sehr kleine Körperchen ($^1/_{10}$ oder $^2/_{10}$ μ), von denen viele diplokokkenartig angeordnet sind. Sie erscheinen auch etwas länger als breit und sind den von Prowazek beim Trachom beschriebenen Chlamydozoen (Fig. 2) sehr ähn-

lich. (Vergl. Fig. 4 in Prowazeks Arbeit: „Chlamydozoen" im Arch. f. Protistenkunde. Bd. X. 1907.) Nähere Mitteilungen über diese gefärbten Präparate, sowie die Ergebnisse weiterer Beobachtungen und Versuche, die im Gange sind, sollen später veröffentlicht werden.

Außer der Aufimpfung auf die Kaninchenhornhaut wurde letzthin auch das Studium der Impfpustel der Haut unternommen. Es sei jedoch gleich bemerkt, daß ich dabei auf große Schwierigkeiten gestoßen bin, und zwar deshalb, weil die Zellenelemente der Epidermis einerseits in ihrem Innern so zarte Körperchen, wie die beschriebenen, weniger deutlich sichtbar werden lassen, da das Protoplasma dieser Zellen viel trüber ist als das der Epithelzellen der Hornhaut, andererseits das Epithel der Oberhaut im frischen Zustande nicht so leicht zerfasert werden kann wie das der Hornhaut. Dieser Teil des Studiums ist jedoch erst kaum begonnen, und kann man hoffen, daß mit vieler Geduld vielleicht auch hier der gleiche Tatbestand nachgewiesen werden kann.

In Hinsicht darauf, daß die Untersuchungen in einigen Teilen noch vervollständigt werden müssen, muß ich mir eine gewisse Zurückhaltung in den Schlußfolgerungen auferlegen. Ich bin jedoch der Ansicht, daß die besonderen, der Aufmerksamkeit der anderen Beobachter bisher entgangenen Merkmale, nämlich:

extreme Kleinheit und Einheitlichkeit der Diameter,

die Eigenbewegung,

ihr reichliches Vorhandensein auf dem Höhepunkt des pathologischen Prozesses,

gleichzeitiges Vorkommen in den Zellen und in den Intercellularräumen,

ausschließliches und ständiges Vorkommen bei der Vaccineinfektion in ihrer Gesamtheit zu der Schlußfolgerung berechtigen, daß diese Körperchen etwas der normalen oder pathologischen Beschaffenheit der Zelle Fremdes darstellen und daß sie außerdem in enger Beziehung zu dem Virus vaccinicum selbst stehen.

Nachdruck verboten.

Hepatitis bei experimenteller Trypanosomiasis.

Von Marinestabsarzt Dr. **Mario Battaglia.**

Uebers. von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

Am Ende des Jahres 1903 und am Anfange des Jahres 1904 konnte ich bei meinen Untersuchungen über das Trypanosoma Vespertilionis (Battaglia) konstatieren, daß sie zum größten Teile mit denen von Schaudinn am Trypanosoma Athenae noctuae übereinstimmten. So fand ich auch, als ich in demselben Jahre ein anderes Trypanosoma, das Trypanosoma Lewisi, untersuchen wollte, viele Sporen und Spindelfiguren, welche denen des von mir beschriebenen Trypanosoma Vespertilionis gleich und ähnlich waren. In jenem Jahre schenkte man meinen und Schaudinns Untersuchungen wenig Glauben und zog die Fortpflanzung der Trypanosomen durch Sporogonie sehr in Zweifel. Ich spreche hier nicht von der Anaisogonie, der Isogonie, der Autogonie und der Analogie des Trypanosoma mit den Halbmondformen des Malariaparasiten, dies alles erschien damals als eine Ketzerei!

Die Arbeiten jedoch, welche darauf zu verschiedenen Zeiten veröffentlicht sind, haben die Parasitologen und Bakteriologen weniger skeptisch gemacht, und auch die Kliniker beginnen jetzt, und zwar glaube ich mit Recht, in dieser Frage durch die Untersuchungen von Mannaberg, Craig, Schaudinn etc. überzeugt zu werden.

Hinsichtlich der von mir bei Trypanosoma Vespertilionis und Trypanosoma Lewisi gesehenen und beschriebenen Formen muß ich daran erinnern, daß die von Baruchello bei Piroplasma equi beschriebenen und gezeichneten Trypanosomiden und die von Novy-Ward und H. Torrey bei der Critidia fasciculata beschriebenen Formen von großer Bedeutung sind. Miyajima konnte auch in einer Kultur von Piroplasma parvum mit Geißeln versehene Formen, echte Trypanosomen, nachweisen; er sah auch Zwischenformen zwischen dem kleinen intraglobularen Piroplasma und der großen geißeltragenden Form und hob die Aehnlichkeit zwischen einigen von diesen und den von Koch und Kleine in der Entwickelung des Piroplasma beschriebenen Formen hervor. Diese Forscher wie auch z. B. Leger legen die Aehnlichkeit der kleinen runden Formen, deren Geißel sich nicht färbt, mit den Formen der Piroplasmen, namentlich des Piroplasma Donowani klar dar und überzeugen sich bei der Untersuchung des Trypanosoma culicis, daß die in der Systematik als Critidia und Herpetomonas schon bekannten Formen nichts anderes als Trypanosoma-Formen sind. Nach der Ansicht dieser Forscher stellen die Kulturformen, die einige als Degenerationsformen ansehen, in der Tat nur einen ursprünglichen Typus dar; von diesem nehmen die blutbewohnenden Formen ihren Ausgang und passen sich dann bei ihrer Entwickelung den lebenden Körperflüssigkeiten an. So sind auch die Arbeiten von Kinoshita über Babesia canis, die von Galli-Valerio und von Dutton, Todd Haning, welche zeigen wollen, daß die sphärischen Formen mit einem einzigen Kerne ohne Spuren von Geißeln oder Blepharostat noch eine weitere Entwickelung haben, eine Bekräftigung für die Befunde Schaudinns bei seinen Untersuchungen an Trypanosoma Athenae noctuae und für meine Befunde an Trypanosoma Vespertilionis und Trypanosoma Lewisi. Lingard sah auch im Blute eines Rindes mit Trypanosoma indicum rätselhafte (so drückt er sich aus), wurmförmige, sphärische und halbmondförmige Körperchen, von denen er zahlreiche Figuren wiedergibt. Er behauptet, daß diese Körperchen, diese rätselhaften Formen, die Phasen eines Sporenkreises des Trypanosoma darstellen. Dies schrieb er im Jahre 1907, d. h. 3 Jahre nach meinen Versuchen und Untersuchungen, die ich im Jahre 1904 publiziert habe.

Liger erwähnt auch die Beobachtungen von Pricolo hinsichtlich des Rattentrypanosoma, die schon im Jahre 1906, d. h. 2 Jahre nach meiner ersten Publikation, veröffentlicht sind. Pricolo hat ebenfalls beim Trypanosoma der Ratte, das von ihm untersucht worden und wahrscheinlich identisch mit dem von Thiroux ist, Formen gefunden, welche an die bei der Vermehrung des Trypanosoma vom Typus Lewisi beobachteten erinnern, und er stellte auch fest, daß sein Trypanosoma durch die Placenta hindurchgeht. 2 Jahre vorher hatte ich auch gezeigt, daß mein Trypanosoma ebenso wie Trypanosoma Lewisi durch das Kitasato-Filter hindurchgeht, und zwar nicht als solches, sondern wahrscheinlich in Form einer kleinen Spore, die bei der gewöhnlichen mikroskopischen Untersuchung unsichtbar ist. Dies zeigte ich in einer sehr einfachen Weise, indem ich nämlich das

Filtrat des Trypanosoma Vespertilionis oder Trypanosoma Lewisi enthaltenden Blutes einem Meerschweinchen injizierte. Im Blute dieses Tieres wiederholten sich dann alle Serien der von mir gesehenen, beschriebenen und studierten Formen des Trypanosoma Vespertilionis und Trypanosoma Lewisi.

Alle diese Untersuchungen bekräftigten und bestätigten nunmehr meine Beschreibungen, die ich schon bei Trypanosoma Vespertilionis und Trypanosoma Lewisi gemacht hatte. Aber diese Bestätigung ist anscheinend nicht recht bekannt geworden, denn nur sehr wenige Untersucher haben sich meiner Arbeiten erinnert und sie in den Literaturangaben erwähnt[1]).

Wie auch immer die Wahrheit vorwärtsschreiten und der Horizont unserer Kenntnisse sich klären und erweitern mag, so fühle ich mich doch zufrieden, weil vor der Wahrheit unsere Arbeiten doch nichts anderes sind als kleine Steinchen, die in das große Meer des Wissens geworfen werden.

Meine Untersuchungen und Experimente brachten mich dahin, Trypanosoma Vespertilionis (Battaglia) und Trypanosoma Lewisi als echte Blutparasiten zu betrachten, von welchen das erste bei den Fledermäusen und das zweite bei den Ratten eine Infektion mit den Eigenschaften einer echten Epidemie hervorrief. Berücksichtigt man die Krankheitssymptome und die pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche die Trypanosomen bei den Versuchstieren hervorrufen, und die Symptome und pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche man bei Vespertilio und Mus decumanus antrifft, wenn man bei ihnen das Trypanosoma findet, so sieht man eine Aehnlichkeit zwischen diesen Symptomen und Veränderungen und denjenigen, die sich bei den Versuchstieren gezeigt haben. Diese meine Ueberzeugung ist jetzt auch durch die Tatsache bestärkt worden, daß es nicht so leicht ist, das Trypanosoma bei der Fledermaus und der Ratte zu finden. Denn es sind nunmehr 3 Jahre vergangen, in welchen ich im ganzen 30 Fledermäuse und eine Anzahl von Ratten getötet, aber bei ihnen nicht Trypanosoma Vespertilionis und Lewisi habe auffinden können. Was das Studium der Organe der an experimenteller Trypanosomiasis erkrankten Tiere anbelangt, so habe ich schon über die durch Trypanosoma Vespertilionis verursachte Nephritis berichtet. Jetzt will ich nun die Veränderungen beschreiben, die man an der Leber derjenigen Tiere findet, welche mit Trypanosoma Vespertilionis (Battaglia) experimentell infiziert worden sind.

Die Leber der geimpften Tiere und derjenigen, in deren Blute man Trypanosoma Vespertilionis zirkulierend gefunden hat, erweist sich als leicht vergrößert; bald ist sie von blaßrotem, fast anämischem Aussehen, bald hat sie auf der Oberfläche rötliche Flecke, die mit weniger roten abwechseln. Die Härte der Leber ist leicht verringert;

---

1) Prof. Nicolle, der Direktor des Instituts Pasteur in Tunis, bat mich durch Vermittelung des Dr. Varese in einem Briefe vom 31. Januar 1906 um meine Arbeit über Trypanosoma Vespertilionis und Trypanosoma Lewisi und machte es mir zur Pflicht, ihm sogleich meine vorläufige Mitteilung zu schicken. Da ich gerade keinen Abzug zur Hand hatte, so schickte ich ihm die Nummer der Annali di Medicina Navale, in welchen dieselbe publiziert war; dort war angegeben worden, wie ich die Fledermäuse in der Gefangenschaft hielt und sie ernährte. Wie groß war daher mein Erstaunen, als ich in der Nummer vom 25. April 1906 der Annales de l'Institut Pasteur in einer Arbeit von Nicolle und Compte „Sur une spirillose d'un cheiroptère" (Vespertilio Kuhli) (p. 311) in einer Bemerkung auf p. 319 die Beschreibung meiner eigenen Methode las, ohne daß ich auch im geringsten erwähnt wurde!



stirbt das geimpfte Tier aber nach 20—25 Tagen von selbst, so ist die Leber so weich, daß sie zerfällt. Auf Schnitten ist die Oberfläche etwas glänzend und leicht schmierig. Die Vena centralis in den Leberacinis ist deutlich sichtbar, erweitert und mit Blut angefüllt. Auf Schnitten, die in verschiedener Weise fixiert und gefärbt sind, sieht man bei mikroskopischer Untersuchung mit schwacher Vergrößerung die Leberacini deutlich voneinander unterschieden. Da das interlobuläre Bindegewebe verdickt und mit kleinen, neugebildeten Bindegewebszellen angefüllt ist, so sind die Zellsäulen auseinandergedrängt und das Maschenwerk, das man bei einem Schnitt durch die Leberacini sieht, ist weiter. Die Kirnamschen Räume sind deutlicher sichtbar und von embryonalen Bindegewebszellen infiltriert. Die interlobulären Gefäße haben verdickte Wände und sind von embryonalen Bindegewebszellen umgeben. Besonders haben die interlobulären Gallenkanälchen ein vergrößertes Epithel mit stark granuliertem Protoplasma und einem in Chromatolyse befindlichen Kerne; sie haben ebenfalls verdickte Kerne und sind von embryonalen Bindegewebszellen umgeben. Setzt man die Beobachtung bei stärkerer Vergrößerung fort, so sieht man, daß die intralobuläre Vene mit roten Blutkörperchen angefüllt ist und ihre Wände verdickt und von jungen Bindegewebszellen infiltriert sind. Die Leberzellen sind vergrößert, haben ein granuliertes und an Fettkörnchen reiches Protoplasma; von osmiumhaltigen Fixierungsflüssigkeiten werden sie schwarz gefärbt. Der Kern der Leberzelle befindet sich in ausgesprochener Chromatolyse und erscheint bei der mikroskopischen Untersuchung als ein bläschenförmiger Körper mit spärlichem Protoplasma, das zerstreute, mit Farbstofflösungen färbbare Granula enthält. Das Kernkörperchen erscheint in starker Pyknose. Die sublobulären Venen haben dieselben strukturellen Eigenschaften, die man bei den inter- und intralobulären Venen findet.

In den verschiedenen, in mannigfacher Weise fixierten und gefärbten Präparaten, auch in den nach der Borrelschen Methode fixierten und gefärbten Präparaten, beobachtet man Trypanosomen weder in ausgewachsenem Zustande noch in irgend einer Entwickelungsphase.

Aus den angeführten Beobachtungen geht hervor, daß bei der mit Trypanosoma Vespertilionis (Batt.) experimentell erzeugten Trypanosomiasis eine echte parenchymatöse Hepatitis vorkommt; hierbei sind sowohl die spezifischen Elemente als auch die Gefäße der Leber geschädigt.

Neapel, Januar 1908.

Bibliographie.

1) Baruchello e Nori, N., Sull'eziologia del così detto tifo o febbre petecchiale del cavallo. Contributo allo studio della piroplasmosi equina. (Rivista di Artiglieria e Genio. Vol. III. 1905. 18 p. 2 tav.)
2) — —, Sulla eziologia del così detto tifo o febbre petecchiale del cavallo. Contributo allo studio della piroplasmosi equina. (Ann. d'Igiene sperimentale. Vol. I + VI. 1908. p. 1—21, con 2 tav.)
3) Battaglia, M., Alcune ricerche sopra due tripanosomi: Trypanosoma Vespertilionis — Trypanosoma Lewisi. (Annali di Medicina Navale. Anno X. Vol. II. Fasc. V. Novembre 1904.)
4) — —, Trypanosoma Vespertilionis. (Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia normale della R. Università di Roma ed in altri laboratori biologici. Vol. XV. Fasc. I. Anno 1906.)
5) — —, Nefrite sperimentale da Trypanosoma Vespertilionis. (Annali di Medicina Navale. Anno XIII. Vol. I. Fasc. V. 1907.)
6) Dutton, I. L., Todd Haninghton, Trypanosome transmission experiments. (Ann. of trop. Med. a. Paras. Vol. I. No. 1. Juni 1907. p. 201—229.)
7) Kleine, I. K., Kultivierungsversuch der Hundepiroplasmen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIV. 26. Juni 1907. p. 8—16.)

8) Lingard, A., Different species of Trypanosomata observed in bovines in India. (Journal trop. vet. Sc. Vol. II. Febr. 1907. p. 4—50. 3 pl.)
9) Miyajima, M., On the cultivation of a bovine piroplasma. A preliminary communication. (Philippine Journal of Sc. Vol. II. No. 2. Med. Sc. Mai 1907. p. 83—90. 3 pl.)
10) Novy, Fred G., Ward, I., MacNeal and Torrey, Harry N., The Trypanosomes of mosquitos and other insectes. (Journal of inf. Dis. Vol. IV. Avril 1907. p. 223—276, mit 7 Mikrophotogr.)
11) Pricolo, Ant., Le trypanosoma de la souris. Cycle de développement des trypanosomes chez le foetus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 18. Sept. 1906.)

Filarienfund in der menschlichen Milz.

Von Dr. **Rheindorf**,
Assistenten am pathologischen Institute der Universität Berlin.

Mit 1 Figur.

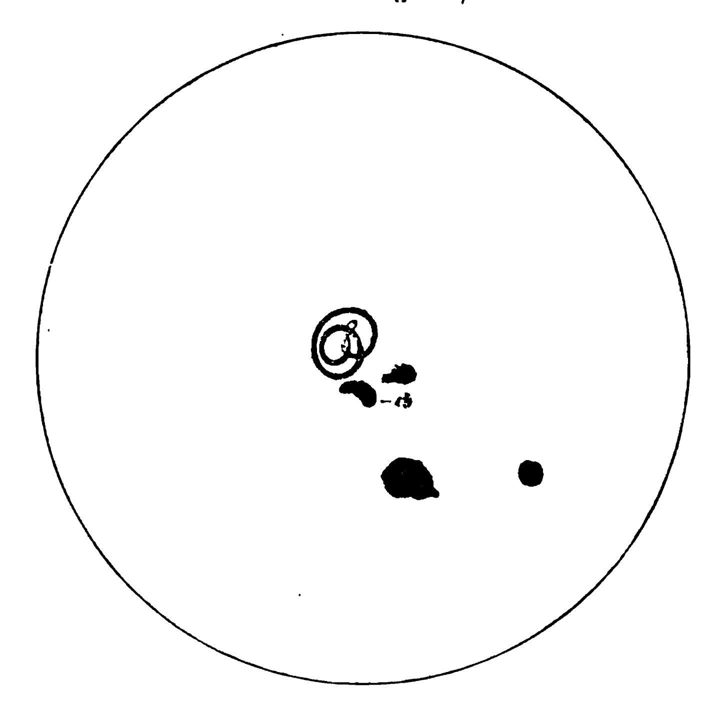
Bei der Sektion eines Nephritikers und Diabetikers, bei dem eine Gangrän der rechten großen Zehe bestand, fand sich unerwarteterweise neben einem starken Milztumor eine beträchtliche Leberschwellung und rotes Knochenmark. Eine Blutuntersuchung während des Lebens war, weil keine Veranlassung dazu vorlag, nicht ausgeführt worden. Beim Durchsuchen eines nach Giemsa gefärbten Milzabstrichpräparates stieß ich unerwarteterweise auf eine kleine Filarienlarve, die ich allerdings bis jetzt in 2 Präparaten nur je 1mal gefunden habe. In zwei anderen Abstrichpräparaten und in zahlreichen Schnitten konnte ich nichts Derartiges entdecken.

Es liegt mir nun vollständig fern, diesen Filarienbefund ohne weiteres auf die oben beschriebenen Organveränderungen zu beziehen. Wenn auch die Möglichkeit immerhin vorhanden ist, daß die Filaria zu ihnen in einem ätiologischen Zusammenhange steht, so möchte ich den Befund doch hauptsächlich deshalb der Oeffentlichkeit übergeben, weil ich die nachher näher zu beschreibende Filarienlarve mit keiner der bis jetzt bekannten identifizieren konnte, so daß die Vermutung berechtigt erscheint, es könnte sich vielleicht um eine neue Art handeln. Herr Prof. v. Jägerskiöld, Direktor des zoologischen Museums in Gothenburg, der die Liebenswürdigkeit hatte, sich das Präparat anzusehen, hält es „wegen der Zartheit und Form des vorderen Endes der Filarie nicht für unwahrscheinlich", daß es sich hier um eine bisher unbekannte Filarienlarve handelt. Auf Grund des vorliegenden Materials kann er aber keine definitive Entscheidung treffen.

Bevor ich kurz einige Daten aus der Krankengeschichte und das Sektionsprotokoll mitteile, zuerst einige Worte über den Parasiten selbst (siehe Figur. Nach einer Photographie gezeichnet, Vergr. 680mal). Er hat ungefähr die 15-fache Länge und $^1/_5$ der Breite eines roten (alkoholfixierten) Blutkörperchens. Das birnförmig auslaufende vordere Ende zeigt zwei symmetrische blauschwarze Pünktchen. Das hintere Ende des Parasiten ist zugespitzt und zeigt ebenfalls ein kleines blauschwarzes Pünktchen. Der zusammengerollte Leib sieht wie gefleckt aus, indem blau gefärbte Partieen mit leicht rötlich-violett gefärbten abwechseln. (Die rote Farbe ist jetzt nach 5 Monaten ganz abgeblaßt, die Stellen sehen jetzt weiß aus.) An mehreren Stellen sieht man intensiv blauschwarze Körnchen, von denen eins besonders in die Augen fällt und

ungefähr am Ende des 1. Fünftels vom vorderen Ende entfernt gelegen ist, einen breiten hellen Hof erkennen läßt und über den Rand hinüberragt. Links davon sind ebenfalls noch zwei distinktere Körnchen sichtbar. Am inneren Rande der ersten Krümmung in der Höhe des vorderen Endes ist noch eine intensiver gefärbte dunkle längliche Stelle sichtbar. Etwas darunter an der Kreuzungsstelle ist der unten liegende Teil des Parasiten auf eine kurze Strecke hin leicht spindelig verdickt. Hier und da sieht man noch kleinste, etwas intensiver gefärbte Pünktchen. Von inneren Organen ist also nichts zu entdecken. Auf eine Erklärung der eben beschriebenen wahrnehmbaren Einzelheiten möchte ich aus verschiedenen Gründen verzichten. Neben der Filarie 4 rote und 1 weißes Blutköperchen.

Der 56-jährige Mann, ein Gastwirt, war geborener Berliner und mit Ausnahme seiner Teilnahme am Kriege 70/71 in seiner Heimatsstadt



geblieben. Vor 3 Jahren hatte er nach Aussage seines behandelnden Arztes starken Albumen. Nach 8-wöchentlichem Krankenlager ging der Albumen zurück; etwas Albumen hatte er von da an stets. 3 Wochen vor dem Tode bemerkte er, daß das Endglied der rechten großen Zehe unter starken Schmerzen braun, blau und schließlich schwarz wurde. Fieber bestand nicht. Bei seiner Aufnahme wurde im Urin Albumen und viel Zucker im Harn nachgewiesen. Unter Temperatursteigerung bis zu 40° C trat am anderen Tage der Exitus ein.

Obduktionsbefund (Dr. Beitzke): Große kräftige männliche Leiche von gutem Ernährungszustand. Hautfarbe gelb; rechte große Zehe von der Haut entblößt, schwarz, trocken, hart. Ueber den Rücken des Fußes zieht ein fingerbreiter schwarzer Streifen von der Zehe bis zur Fußwurzel.

Zwerchfellstand rechts IV., links V. Rippe.

Rechte Lunge oben hinten verwachsen; linke Lunge frei. In beiden Pleurahöhlen etwa $^1/_4$ l einer gelben Flüssigkeit. Herz $1^1/_2$mal so groß

wie die Faust; Muskulatur rotbräunlich, ziemlich derb; Wand links 10—14 mm, rechts 2—5 mm stark. An der Spitze rechts starke Fettdurchwachsung. Auf dem Schließungsrande der Aortenklappe zarte hahnenkammförmige Auflagerungen. Schließungsrand der Mitralis leicht verdickt, die übrigen Klappen zart. Coronararterien mit zahlreichen gelben Flecken.

Lungen ziemlich voluminös; Pleura stellenweise matt. Luftgehalt durchweg etwas herabgesetzt. Schnittfläche bräunlich-rot. Bronchien enthalten bräunlichen Schleim, ziemlich weit, Schleimhaut gerötet. In der linken Spitze eine flache, pfennigstückgroße Narbe.

Zungenpapillen auffallend stark; Zäpfchen gespalten. Oesophagus und Schilddrüsen o. V.

Milz 17 : 11 : 6, dunkelgraurot, mäßig derb, Pulpa weich, abstreifbar.

Nieren 13 : 6 : 5, hellbräunlich und rötlich gesprenkelt. Die roten Flecken stellenweise als scharfe Punkte sichtbar. Konsistenz ziemlich derb. Schnittfläche ziemlich gleichmäßig rotbräunlich. Mark und Rinde schwer voneinander zu unterscheiden.

Blase enthält ca. 1000 ccm dunkelgelben trüben Urins. Schleimhaut hellgelblich.

Aus der Papilla Vateri entleert sich auf Druck etwas trübe, rötlichgelbe Galle; Ductus choledochus weit, durchgängig.

Magen. Im Fundus zahlreiche stark gefüllte Gefäßbäumchen. Leber 30 : 27 : 10. Farbe rötlich-gelblich; mäßig derb. An einer Stelle unter der Kapsel des linken Lappens eine linsengroße blaurote Stelle. Beim Einschneiden stürzt flüssiges Blut hervor. Gallenblase, ganz in Darmschlingen eingebettet, hat kaum die Größe zweier Fingerglieder und enthält etwas trübe, gelblich-rote Galle und einen kirschkerngroßen dunkelgrauen Gallenstein.

Mesenterium sehr fettreich. Im Darm viel breiiger grauer bis gelblichgrauer Kot.

Schleimhaut des Querkolon gerötet; im unteren Ileum lebhafte Knötchenschwellung.

Pankreas 17 : 3 : 2, graurötlich; Schwanzteil gelblich, im übrigen o. V.

Aorta mit zahlreichen beetartigen Erhebungen, die zum Teil oberflächlich ulceriert und mit grauroten weichen Massen bedeckt sind. Daneben knochenharte gelbe bis pfennigstückgroße Platten und längsgestellte Runzeln. Aehnliche Veränderungen in der rechten Femoralis; hier außerdem Kalk in der Media. In der Tibialis postica unten Verschluß durch einen grauroten Pfropf.

Knochenmark im oberen Drittel des Femur graurot.

Der mikroskopische Befund ist folgender:

Die sehr voluminöse Leber zeigt zwei gleich in die Augen springende Veränderungen; erstens eine ungleichmäßig über den ganzen Schnitt verteilte Weite der Kapillaren, die ganz unregelmäßig teils die zentralen, teils die peripherischen Abschnitte einnimmt und sich gelegentlich über beide erstreckt. Die stark mit roten Blutkörperchen gefüllten Kapillaren, in denen zahlreiche gelappte und mehrkernige Leukocyten und weniger zahlreiche einkernige größere Zellen liegen, sind stellenweise bedeutend dicker als die atrophischen Leberzellbalken. Die Zellen der letzteren haben überall gute Kernfärbung. Zweitens sieht man eine zellige Infiltration wechselnden Grades hauptsächlich um die peripherischen Abschnitte. Die in den Kapillaren zwischen den zahlreich vorhandenen Leukocyten liegenden einkernigen Zellen sind von verschiedener Größe; sie schwankt zwischen der einfachen und doppelten Größe eines Leukocyten. Das Chromatin ist zart bis dicht, fast klumpig angeordnet. Das

Protoplasma umgibt den Kern in wechselnder Stärke, meistens in Gestalt eines breiten Hofes. Eine Granulierung dieser Zellen konnte ich nicht nachweisen. Bei Methylgrün-Pyroninfärbung, bei der das Protoplasma der Leukocyten farblos bleibt, färben sie sich karmoisinrot und es tritt an dem Protoplasma bei Immersion ein deutlich wabiger Bau hervor. Bei manchen ist das Protoplasma homogen; zwischen beiden Zellarten gibt es alle möglichen Abstufungen. Im Kerne sind ein oder mehrere rote Nucleoli sichtbar. Das Chromatin ist überaus zart bis sehr dicht angeordnet. Gelegentlich ist der Nucleolus von einem feinen Körnchenkranz umgeben. Die oben erwähnte Infiltration besteht nun fast ausschließlich aus ebensolchen Zellen mit gelegentlich geringen leukocytären Beimengungen und da man diese Zellen gelegentlich auch zahlreich in der Gefäßwand findet, sie vollständig durchsetzend und ihre Faserlagen auseinanderdrängend, so trage ich kein Bedenken, sie als aus dem Blute stammend zu bezeichnen. In der Gefäßwand nehmen sie Formen an, wie der Raum, durch den sie dringen, es bedingt; sie sind infolgedessen langgestreckt entsprechend den Lücken in den Faserlagen der Gefäßwand. Eine einheitliche Auffassung dieser Zellen zu bekommen, gelang mir nicht; sie sind in ihrem Aussehen recht verschieden. Bei den kleinen Formen mag es sich um lymphocytäre Elemente handeln. Für die großen möchte ich die Vermutung aussprechen, daß es sich um Myeloblasten handelt, wenn ich die von Schridde in Zieglers Beitr. Bd. XLI gemachten Angaben zu Grunde lege. Inwieweit Lymphoblasten in Frage kommen, möchte ich offen lassen, da das „ausschlaggebende Moment", wie Schridde sagt, in der Altmann-Schriddeschen Granulafärbung zu suchen ist, eine Methode, die ein lebenswarm fixiertes Gewebe zur Voraussetzung hat.

Die stark vergrößerte Milz läßt eine Struktur insofern nicht mehr erkennen, als der Unterschied zwischen Lymphknötchen und Pulpa fast vollständig verschwunden ist. Die stark bluthaltige Milz ist nun so vollständig von gelappten und mehrkernigen Leukocyten durchsetzt, daß sie den Hauptbestandteil der in der Milz vorhandenen kernhaltigen Zellen ausmachen. Bei Methylgrün-Pyroninfärbung fallen nun schon bei schwacher Vergrößerung intensiv rote Partieen auf, die die hyalin verdickten Trabekel und Gefäße gewissermaßen einhüllen und gruppenweise hauptsächlich in den Pulpasträngen und in den Gefäßen ihren Sitz haben. Für diese Zellen gilt dasselbe, was ich über die großen in den Zellinfiltraten der Leber vorhandenen bereits gesagt habe, da sie sich färberisch genau so verhalten. Es sind diese Zellen keineswegs etwas der Milz Fremdes; in normalen Milzen fand ich sie ebenfalls, nur nicht so reichlich und so haufenweise. Wenn ich sie als Myeloblasten bezeichne. so will ich damit keineswegs sagen, daß sie aus dem Knochenmark stammen; sie können auch Abkömmlinge von Pulpazellen sein, die mit den Knochenmarkzellen wenn nicht identisch, so ihnen doch nahe verwandt sind.

Wenn ich noch hinzufüge, daß einige dieser Zellen mehrkernig, in den einkernigen häufig Karyomitosen sichtbar sind, so ist, wenn ich des um die Gefäße stellenweise intracellulär gelegenen Pigmentes Erwähnung tue, das Wesentliche des Milzbefundes mitgeteilt.

Das Knochenmark zeigt zwischen den noch vorhandenen Fettzellen ein verschieden breites Maschenwerk von Zellen, hauptsächlich Leukocyten. An einigen Stellen sind in ziemlicher Anzahl teils rundkernige, große eosinophile Zellen vorhanden. Die übrigen Zellen entsprechen in Größe und Verhalten bei Methylgrün-Pyroninfärbung den in der Milz

beschriebenen. Der wabige Bau des Protoplasmas ist grob- bis feinmaschig; gelegentlich fehlt er und sieht homogen rot aus. Manche Zellen mit feinwabigem Protoplasma haben infolge des ganz zart rot gefärbten Zellleibes schwer erkennbare Grenzen. Außerdem liegen noch über das ganze Gesichtsfeld zerstreut mehr- und riesenkernige Zellen mit stark klumpigem Chromatin. Zahlreiche mit Erythrocyten, Leukocyten und Myeloblasten gefüllte Kapillaren durchziehen die zellreichen Stränge zwischen den Fettzellen. Karyomitosen in allen Phasen der Entwickelung sind ziemlich zahlreich vorhanden. Einmal sah ich eine asymmetrische, dreiteilige.

Die Nieren zeigen mikroskopisch eine herdweise, hauptsächlich die Rinde betreffende totale Nekrose der gewundenen Harnkanälchen, zwischen denen gelegentlich das Gerüst erhalten ist. Ferner sind die aufsteigenden Schleifenschenkel größtenteils nekrotisch und einige Glomeruli hyalin entartet. In den Kapillaren liegen Leukocyten und einkernige Zellen, von denen nur einige bei Methylgrün-Pyroninfärbung wabig gebautes Protoplasma zeigen. Um die Glomeruli herum und sich gelegentlich zwischen die noch erhaltenen Kanälchen fortsetzend, sieht man stellenweise eine zellige Infiltration; der Leib dieser Zellen erscheint jedoch bei Methylgrün-Pyroninfärbung homogen rötlich, so daß die Zellinfiltrate in den Nieren wohl mehr auf Kosten der starken chronischen Nephritis zu setzen sind, als daß sie den in der Leber erhobenen als Parallelbefunde an die Seite gestellt werden dürften.

In den Lungen sind sowohl die größeren Gefäße als auch die Kapillaren stark leukocytenhaltig, zwischen denen in wechselnder Menge Zellen liegen, wie sie in den Infiltraten der Leber beschrieben wurden. Letztere liegen auch in geringer Weise im Bindegewebe um die kleinen Gefäße. In einigen Kapillaren trifft man deformierte mehrkernige Zellen, anscheinend embolisch verschleppte Knochenmarksriesenzellen. Die Alveolen sind durchweg lufthaltig; hier und da enthalten sie einige desquamierte Kohlenstaubzellen und zeigen geringes Oedem. Leukocyten fehlen in ihnen vollständig. Das Pankreas zeigt keine Veränderungen.

Aus diesen Befunden in den Organen nun einen bindenden Schluß auf den Blutbefund machen zu wollen, ist eine mißliche Sache. Ich möchte daher auch nur die Vermutung äußern, es möchte sich in diesem Falle vielleicht um eine einfache Hyperleukocytose gehandelt haben, da die von mir als Myeloblasten und Lymphocyten angesprochenen Zellen vielleicht im peripherischen kreisenden Blute wenig oder gar nicht vorhanden waren, da ja die Neigung bestanden zu haben scheint, daß sie in inneren Organen, z. B. in der Leber, zur Ablagerung gelangten.

Zum Schlusse möchte ich noch einmal betonen, daß die Veränderungen — von der Nephritis und dem Diabetes sehe ich a priori ab — die auf eine Erkrankung des hämatopoetischen Systems hinweisen, absolut nicht auf den Filarienbefund bezogen werden müssen. Die Möglichkeit eines ätiologischen Zusammenhanges ist jedoch nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen. Eine Entscheidung kann eben nur dadurch herbeigeführt werden, daß man bei ähnlichen Erkrankungen eventuell auf das Vorkommen dieser Filarie achtet, von der erst festzustellen ist, ob es sich um eine bekannte oder um eine bisher unbekannte handelt. Bei der überaus großen Zartheit der Filarie, die im Schnitt wohl äußerst schwer nachzuweisen sein wird, wird es sich empfehlen, neben der frischen Untersuchung eine reichliche Menge Deckgläschen auszustreichen, eine Manipulation, die ich leider unterlassen habe.

Ueber die Säurenatur der hämolytischen Immunkörper.

[Aus dem Institut für Hygiene u. Bakteriologie der Universität Straßburg (Direktor: Prof. Dr. Forster).]

Von Dr. **Kurt Meyer,** I. Assistenten des Instituts.

Während zahlreiche Arbeiten über die Gesetzmäßigkeiten der hämolytischen Immunkörper, über ihre Entstehungsbedingungen und ihre Bindungsverhältnisse, ihr Verhalten gegen Temperatur und andere physikalische Einflüsse vorliegen, sind wir über ihre chemische Zusammensetzung noch ganz im unklaren. Soweit Isolierungsversuche vorgenommen wurden, sind sie ergebnislos geblieben, und wir können noch heute nicht mit Sicherheit sagen, ob die Immunkörper den Eiweißkörpern oder anderen Substanzklassen, etwa den Lipoiden, zuzurechnen sind.

In jüngster Zeit hat nun v. Liebermann[1]) eine Reihe von Untersuchungen veröffentlicht, die eine nähere Kenntnis der Natur des hämolytischen Immunkörpers zum Ziel hatten. Insbesondere glaubte er den Nachweis geführt zu haben, daß mit Immunkörper beladene Blutkörperchen diesen unter der Einwirkung verdünnter Säuren freigeben. Er faßte den Vorgang so auf, daß eine Stroma-Immunkörperverbindung durch die Säure zerlegt würde und der Immunkörper selbst daher eine Säure oder ein Säuregemenge sei. Er scheint dabei geneigt zu sein, Agglutinin und Hämolysin zu identifizieren.

Bei der Wichtigkeit dieser Ergebnisse schien eine Nachprüfung der Versuche wünschenswert, zumal bei genauerer Durchsicht der Versuchsprotokolle das Fehlen mancher wichtiger Kontrollen auffiel.

Ich hielt mich zunächst ganz an die Versuchsanordnung v. Liebermanns. 3 ccm eines inaktivierten Hammelblutkörperchen-Kaninchenimmunserums, das in 1 ccm 4000 hämolytische Einheiten enthielt (unter hämolytischer Einheit wird die 1 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung komplett lösende Menge verstanden), wurde mit 6 ccm Hammelblutsuspension vermengt und die Mischung unter wiederholtem Umschütteln $^3/_4$ Stunden im Thermostaten gehalten. Darauf wurden die Blutkörperchen abzentrifugiert, mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, 3 ccm $n/_{100}$ H_2SO_4 hinzugefügt und die Mischung 2 Minuten geschüttelt. Die abzentrifugierte Flüssigkeit wurde mit $n/_{100}$ NaOH neutralisiert und nochmals zentrifugiert. Es resultierte eine etwas trübe, dunkelgelb gefärbte Flüssigkeit, die auf hämolytisches Vermögen geprüft wurde.

Sie wurde in zwei gleiche Teile geteilt und zur einen Hälfte 1 ccm frisches Hammelserum und 1 ccm 5-proz. Hammelblut gefügt. Nach 2 Stunden waren die Blutkörperchen stark agglutiniert; Hämolyse war nicht eingetreten. Die andere Hälfte wurde in entsprechender Weise mit Pferdeserum und Pferdeblutkörperchen versetzt. Nach 2 Stunden erwiesen sich auch diese als agglutiniert, ohne Hämolyse zu zeigen. v. Liebermann weist nun darauf hin, daß bisweilen nur bei ganz bestimmter Reaktion zur Agglutination die Hämolyse hinzutritt, und versetzt daher die zu prüfende Flüssigkeit tropfenweise mit steigenden Mengen von $n/_{100}$-Säure. Ich ging so vor, daß ich von Stunde zu Stunde

1) v. Liebermann, L., Biochem. Zeitschr. Bd. IV. p. 25. Archiv f. Hygiene Bd. LXII. p. 276.



zu den Gemischen 2 Tropfen $n/_{100}$ H_2SO_4 anfügte. Auch nach Zusatz von 10 Tropfen trat keine Lösung ein. Nach 20-stündigem Stehen im Eisschrank war es in beiden Gläsern zu einer ganz geringen Hämolyse gekommen.

Aus meinem Versuch ergibt sich also, daß aus den mit Immunserum vorbehandelten Blutkörperchen durch Säurezusatz eine Substanz freigemacht wird, die sowohl die dem angewandten Immunkörper entsprechende, wie auch eine fremde Blutart agglutiniert, der also keine Spezifizität zukommt. Eine Hämolyse konnte ich nicht beobachten. Der Vorgang ist wohl so zu deuten, daß aus den durch die Vorbehandlung stark agglutinierten und demgemäß wohl auch geschädigten Blutkörperchen durch den verhältnismäßig starken Säurezusatz irgendwelche Substanzen, vielleicht lipoider Natur, in Freiheit gesetzt werden, die nun, ohne mit dem Immunkörper irgendwie zusammenzuhängen, auf Blutkörperchen überhaupt agglutinierend wirken. Das Ausbleiben der Hämolyse vermag ich nicht zu erklären.

Aber selbst wenn die v. Liebermannschen Angaben durch meinen Versuch Bestätigung erfahren hätten, so wären sie meines Erachtens in dieser Form nicht zu Schlüssen über die Natur des Immunkörpers zu verwerten. Sie gehen aus von mehreren Tausend hämolytischen Einheiten und begnügen sich schließlich mit dem Nachweis von deren zwei. Nach chemisch-analytischen Grundsätzen kann man aber wohl nicht davon sprechen, daß eine Substanz in eine Fraktion übergegangen sei, wenn man darin nur den tausendsten Teil wiederfindet.

Aus diesen Gründen schien mir eine Wiederholung der Versuche unter genauer Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse erforderlich.

Zu 20 ccm 10-proz. Blutaufschwemmung werden 0,5 ccm Immunserum (= 2000 hämolytische Einheiten) gefügt und das Gemisch 2 Stunden unter öfterem Umschütteln im Thermostaten gehalten. Darauf wurde zentrifugiert und die klare Flüssigkeit auf ihre hämolytische Wirkung geprüft. Es ergab sich, daß sie frei von Immunkörper, dieser also wohl von den Blutkörperchen absorbiert war (Tab. I).

Tabelle I.

Hämolysiertes Serum nach Behandlung mit Blutkörperchen	5-proz. Hammelblut	Meerschweinchenserum 1:10	Hämolyse
1,0	1,0	1,0	Spur (?)
0,5	1,0	1,0	0
0,1	1,0	1,0	0

Die gewaschenen Blutkörperchen wurden dann mit 5 ccm $n/_{100}$ H_2SO_4 und 10 ccm NaCl-Lösung 5 Minuten geschüttelt und abzentrifugiert. Die Flüssigkeit wurde darauf mit 5 ccm $n/_{100}$ NaOH versetzt und auf hämolytische Wirksamkeit geprüft. Es blieb jegliche Hämolyse aus (Tab. II).

Tabelle II.

Neutralisierte Zersetzungsflüssigkeit	5-proz. Hammelblut	Meerschweinchenserum 1:10	Hämolyse
1,0	1,0	1,0	0
0,5	1,0	1,0	0
0,1	1,0	1,0	0

Die mit Säure behandelten Blutkörperchen wurden durch Komplementzusatz in kurzer Zeit gelöst, waren also noch mit Immunkörper beladen.

Meine Versuchsanordnung weicht von der v. Liebermanns insofern ab, als ein nicht so großer Ueberschuß von Immunserum bei der Vorbehandlung der Blutkörperchen verwendet wurde und die Menge noch stark mit Kochsalzlösung verdünnt war. Dementsprechend war die Agglutination nur verhältnismäßig schwach. Auch den Säurezusatz wählte ich erheblich geringer, aber doch in genügender Menge, wie eine einfache Ueberlegung zeigt. Setzen wir das Molekulargewicht des Immunkörpers — ihn als einbasische Säure im Sinne v. Liebermanns angenommen — gleich 500, was gewiß nicht zu hoch ist, so müßte das angewandte Säurequantum 25 mg von ihm freimachen, eine Menge, wie wir sie wohl auch bei dem höchstwertigen Serum in $1/_2$ ccm nicht anzunehmen haben. Wäre der Immunkörper durch die Säure in Freiheit gesetzt worden, so hätte 1 ccm der Zersetzungsflüssigkeit 100 hämolytische Einheiten enthalten müssen. Da nicht eine einzige nachzuweisen war, dürfte wohl die v. Liebermannsche Annahme kaum zu Recht bestehen [1]).

Da die Möglichkeit vorlag, daß nur aus stark agglutinierten Blutkörperchen durch Säurezusatz der Immunkörper frei gemacht wird, so stellte ich den Versuch noch mit einem schwach hämolytischen, aber stark agglutinierenden Pferdeblut-Kaninchenserum an, das durch Injektion von Pferdeserum gewonnen war. Seine geringste lösende Dosis war = 0,02 ccm, die Agglutinationswirkung ging weiter, doch war der Grenzwert 0,01—0,005 nicht mit Sicherheit festzustellen. Die quantitativen Verhältnisse waren dieselben wie im vorigen Versuche und auch sonst war die Anordnung die gleiche. Die Blutkörperchen erwiesen sich nach der Vorbehandlung als agglutiniert. Trotzdem war auch bei diesem Versuche das Ergebnis negativ (Tab. III).

Tabelle III.

Neutralisierte Zersetzungsflüssigkeit	5-proz. Pferdeblut	Meerschweinchenserum 1:10	Hämolyse
1,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm	0
0,5 „	1,0 „	1,0 „	0
0,1 „	1,0 „	1,0 „	0

Auch Agglutination konnte nicht festgestellt werden.

Da v. Liebermann besonders auf die Bedeutung der Reaktion für den Eintritt der Hämolyse hinweist, so untersuchte ich, ob ihr in der Tat diese Rolle zukommt. Es wurde die eben komplett lösende Dosis eines Immunserums mit steigenden Mengen von $n/_{100}$ NaOH und $n/_{100}$ H_2SO_4 versetzt. Ein Einfluß auf die Hämolyse machte sich bei diesen Versuchen nicht bemerkbar (Tab. IV).

Das Ausbleiben der Hämolyse in unseren Versuchen kann nach diesen Ergebnissen nicht durch einen zu starken Säure- oder Alkaligehalt bedingt sein, da die zur Säuerung oder Neutralisierung verwandten Mengen nur 0,25 ccm $n/_{100}$ Säure und Alkali auf den Kubikcentimeter ausmachen, etwa vorgekommene Fehler bei der Neutralisation also überhaupt nicht in Betracht kommen.

Das Ergebnis meiner Versuche wäre demnach, daß die von v. Liebermann vorgebrachten Beweise für die Säurenatur der hämolytischen

1) Anmerkung bei der Korrektur. In späteren Versuchen ließ sich bei stärkerem Säurezusatz eine schwache hämolytische Wirksamkeit der Zersetzungsflüssigflüssigkeit feststellen. Sie war jedoch nicht spezifisch und auch ohne Komplementzusatz nachweisbar.

Tabelle IV.

Hammelblutimmunserum	$n/_{100}$ NaOH	Meerschweinchenserum 1 : 10	Hämolyse
0,0005 ccm	0,05 ccm	1,0 ccm	komplett
0,0005 „	0,1 „	1,0 „	„
0,0005 „	0,2 „	1,0 „	„
0,0005 „	0,5 „	1,0 „	„
	$n/_{100}$ H_2SO_4		
0,0005 ccm	0,05 ccm	1,0 ccm	komplett
0,0005 „	0,1 „	1,0 „	„
0,0005 „	0,2 „	1,0 „	„
0,0005 „	0,5 „	1,0 „	„
0,0005 „	0,0 „	1,0 „	„

Immunkörper sich nicht bestätigen lassen, daß also weitere Forschungen in dieser Richtung notwendig sind. Hierbei wird es empfehlenswert sein, sich an die immunisatorisch erzeugten, nicht die Normalhämolysine zu halten, da nur bei jenen die unbedingt notwendige quantitative Verfolgung leicht durchführbar ist.

Bemerkung zu der Arbeit von J. Kentzler „Beitrag zur Hämolysinbildung der Typhusbacillen“[1]).

Von **E. Levy**, Straßburg.

J. Kentzler schreibt: „Die ersten, die eine Hämolysinbildung der Typhusbacillen beschrieben, E. und P. Levy, haben zwar keine exakten Angaben über ihre Versuche mitgeteilt, sie beschränkten sich vielmehr nur auf den Nachweis der Lysine; die weiteren Versuche von H. Kayser etc. zeigten aber, daß die Lysine der Typhusbacillen ebenso thermostabil sind, wie diejenigen des Bacillus coli und pyocyaneus.“ Demgegenüber führe ich aus der Arbeit von E. und P. Levy (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. p. 406 und 407) folgende 2 Sätze gleichfalls wörtlich an. „Durch Hitze vermochten wir das Typhushämolysin nicht zu inaktivieren.“ „Das Antihämolysin hält Erhitzen auf 56° aus.“ Ich halte aus leicht begreiflichen Gründen daran, obenstehende Angabe von J. Kentzler richtigzustellen. Vielleicht ersieht er auch aus dem zweiten Satze, daß seine „Versuche“ doch nicht „im Einklang stehen mit den Ergebnissen Anderer“. Auf weiteres werde ich mich nicht einlassen.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. Heft 6.

Weitere Affinitätsstudien an Agglutininen.

[Aus dem hyg. Institut der Universität Graz.]

II. Mitteilung.

Von Dr. **Paul Th. Müller**,
Privatdozenten und Assistenten am hygienischen Institute.

(Schluß.)

Absorptionsquotienten nach 1maliger Injektion.

	Zahl der dargebotenen Agglutinineinheiten	
	101—1000	1001—10 000
	0,17	0,02
	0,19	0,26
	0,42	0,18
	0,14	0,33
	0,17	
	0,12	
	0,42	
	0,26	
Mittel:	0,23	

Absorptionsquotienten nach 4—6maliger Injektion.

	Zahl der dargebotenen Agglutinineinheiten		
	101—1000	1001—10 000	10 000—100 000
	0,63	0,92	0,89
	0,97	0,78	0,83
	0,99	0,79	
	0,64	0,91	
	0,45	0,83	
	0,45		
	0,86		
	0,96		
	0,97		
Mittel:	0,77		

Absorptionsquotienten nach 6maliger Injektion und darauffolgender ½-jähriger Pause.

	Zahl der dargebotenen Agglutinineinheiten	
	101—1000	1001—10 000
	0,27	0,17
	0,12	0,26
	0,21	0,08
	0,18	
	0,17	
	0,20	
	0,31	
	0,31	
	0,07	
Mittel:	0,20	

Das Ergebnis dieser Versuche spricht sich in den zusammenfassenden Tabellen außerordentlich deutlich aus und läßt sich dahin präzisieren, daß die Agglutinine im Serum der 4—6mal injizierten Versuchstiere unmittelbar nach der immunisatorischen Behandlung eine bedeutend größere Avidität aufweisen als etwa $^1/_2$ Jahr später. Um diese Zeit war deren Affinität ungefähr auf jenen Wert abgesunken, welcher bei den nur 1mal injizierten Kontrolltieren beobachtet wurde, eine Tatsache, die besonders deutlich

Absorptionsquotienten entsprechend 101—1000 dargebotenen Agglutinineinheiten (Mittelwerte).

Sofort nach 1maliger Injektion	Sofort nach 4—6maliger Injektion	$^1/_2$ Jahr nach 4—6maliger Injektion
0,23	0,77	0,20

zu Tage tritt, wenn man die Mittelzahlen nebeneinander stellt, die bei einer Menge von 101—1000 dargebotenen Agglutinineinheiten bei den 3 Gruppen von Versuchstieren gewonnen wurden.

Hieraus scheint also hervorzugehen, daß der einmal im Verlaufe der Immunisierung erreichte Affinitätsgrad bei weiterer (spontaner) Produktion der Antikörper nicht beibehalten wird, sondern daß mit dem Fortfall des durch die Antigenzufuhr gesetzten Reizes die Avidität ganz beträchtlich wieder absinkt, und somit die Rückkehr zur Norm nicht nur durch die allmähliche quantitative Einschränkung der Antikörperproduktion eingeleitet wird, sondern auch in der qualitativen Rückbildung derselben zum Ausdruck kommt.

Eine ganz analoge Tatsache hat bereits vor längerer Zeit Kraus[1]) bei dem Studium der gegen Vibrio Nasik wirksamen Antitoxine beobachtet. Das Serum eines immunisierten Bockes, kurze Zeit nach der letzten Injektion entnommen, vermochte nämlich das Toxin nicht nur in vitro, sondern auch im Organismus zu neutralisieren, und zwar selbst bei getrennter und gleichzeitiger Applikation von Gift und Serum. Nachdem das Tier dann durch fast $1^1/_2$ Monate nicht mehr injiziert worden war, wurde neuerdings ein Aderlaß gemacht, und da zeigte sich nun, daß selbst große Mengen des Serums nicht mehr im stande waren, das Gift bei getrennter Applikation zu neutralisieren, während sich die Wertigkeit des Serums im Reagenzglasversuch nicht geändert hatte. Das Antitoxin hatte somit eine Aenderung in dem Sinne erfahren, daß es nicht mehr so rasch Gift zu neutralisieren vermochte wie ein frisches, bald nach der Injektion gewonnenes Antitoxin. Da man in der Neutralisierungsgeschwindigkeit zweifellos einen Ausdruck der Aviditätsverhältnisse sehen muß, so liegt die Analogie mit unseren oben mitgeteilten Beobachtungen auf der Hand.

IV.

Mit dieser Feststellung wären nun tätsächlich die beiden ersten Möglichkeiten, die wir für die Beziehung zwischen Immunisierungsdauer und Avidität der Immunprodukte aufstellten, als abgetan zu betrachten. Denn wir haben ja auseinandergesetzt, daß dieselben nur dann als annehmbar und mit den Tatsachen vereinbar angesehen werden könnten, wenn die Aviditäten mit der Zeit nur eine Zunahme bezw. eine asymptotische Annäherung an ein Maximum erkennen lassen würden, nicht

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1903.

aber, wenn die Aviditätskurve sich nach dem Aufhören der Bakterieneinspritzungen wieder der Abscissenachse näherte, wie dies tatsächlich der Fall war.

Nur ein — allerdings durchaus nicht unberechtigter und daher besonders zu prüfender — Einwand konnte hiergegen erhoben werden: Daß nämlich zwar die Avidität der Agglutinine, die im Blute meiner seit langer Zeit nicht mehr in immunisatorischer Behandlung befindlichen Tiere kreisten, im Moment der Produktion eine maximale gewesen sei, aber in der Blutbahn allmählich eine Abschwächung erfahren habe. Solange die Tiere auf dem Höhepunkt der Immunkörperproduktion standen, wäre, nach dieser Auffassung, die auch dann vor sich gehende Aviditätsabschwächung durch das massenhafte Nachrücken hochavider Antikörper verdeckt worden. Wenn dagegen die Produktion derselben zu erlahmen beginne, so würden die aus früheren Perioden stammenden nunmehr abgeschwächten Antikörper über die spärlichen neu hinzukommenden von hoher Avidität überwiegen, ohne daß deshalb die Schlüsse gezogen werden dürften, die wir eben aus dieser Abnahme der Avidität gezogen haben.

Daß Antikörper mit der Zeit an Wirksamkeit abnehmen und durch eine Reihe von chemischen, thermischen und photodynamischen Einwirkungen abgeschwächt werden, ist seit langem bekannt. Aber auch eine deutliche Aviditätsabnahme hat Kraus bei dem schon früher erwähnten Antitoxin des Vibrio Nasik beobachtet, wenn dasselbe längere Zeit aufbewahrt wurde, eine Aviditätsabnahme, die sich auch hier wieder in einer verminderten Reaktionsgeschwindigkeit mit dem Toxine äußerte, und Kraus spricht direkt aus, daß das Antitoxin im Organismus offenbar denselben Veränderungen unterworfen sei wie in vitro, faßt also die von ihm beobachtete Abnahme der Avidität im Blute des längere Zeit hindurch nicht injizierten Tieres lediglich als ein solches Abschwächungsphänomen auf.

Um nun Klarheit darüber zu erhalten, ob diese Auffassung berechtigt ist, mußten zunächst einige Versuche mit passiv immunisierten Tieren angestellt werden. Denn es ist ja einleuchtend, bei einem aktiv immunisierten Tiere wird es zweifelhaft bleiben müssen, ob die zu einer gewissen Zeit in dessen Blute enthaltenen Antikörper ihre geringe Avidität erst durch Abschwächung bei längerem Aufenthalt in der Blutbahn erlangt haben, oder aber schon mit schwacher Affinität ausgestattet waren, als sie aus den Zellen in die Gewebsflüssigkeiten übertraten. Bei passiv immunisierten Tieren dagegen ist das Experiment ein viel reineres, da hier eine Abnahme der Avidität nur auf Abschwächung der eingespritzten Antikörper bezogen werden kann. Ich habe daher 2 Kaninchen ziemlich beträchtliche Mengen agglutinierenden Immunserums (von Kaninchen gewonnen) in die Ohrvene eingespritzt und dann von Zeit zu Zeit die Avidität der noch in ihrem Serum enthaltenen Antikörper bestimmt.

Gleichzeitig wurde auch je eine Probe dieser beiden zur Injektion benutzten Immunsera, mit $^1/_2$-proz. Karbolsäure versetzt, im Brutschrank bei 37° aufbewahrt, um die in vitro vor sich gehende Abschwächung mit der in vivo vergleichen zu können.

Ich lasse zunächst die diesbezüglichen Versuchsprotokolle folgen, deren Resultate in 2 Uebersichtstabellen zusammengestellt sind.

Abschwächungsversuch I.

A. in vivo.

Serum eines Kaninchens, das im Laufe von 5 Wochen 6 Typhusinjektionen erhielt (Serum A). 4. Nov. 1907.

Absorptionsquotienten.

1 ccm Serum A = 166 666 A.E.

1) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm Serum verd. = 16 666 AE.
1 „ C = 2 500 „

Quotient: $\frac{16\,666-250}{16\,666} = 0{,}83$

2) Serum 100-fach verdünnt.
1 ccm Serum verd. = 1666 AE.
1 „ C = 250 „

Quotient: $\frac{1666-275}{1666} = 0{,}83$

3) Serum 1000-fach verdünnt.
1 ccm Serum verd. = 166 AE.
1 „ C = 4 „

Quotient: $\frac{166-4{,}4}{166} = 0{,}97$

4) Serum 50-fach verdünnt
1 ccm Serum = 3333 AE.
1 „ C = 588 „

Quotient: $\frac{3333-646}{3333} = 0{,}80$

Am 4. Nov. einem normalen Kaninchen ca. 15 ccm dieses Serums intravenös eingespritzt. Nach 1 Stunde Blutentnahme (Serum P).

1 ccm Serum P = 20 000 AE.

1) Serum voll.
1 ccm C = 4000 AE.

Quotient: $\frac{20\,000-4400}{20\,000} = 0{,}78$

2) Sernm 10-fach verdünnt.
1 ccm Serum verd. = 2000 AE.
1 „ C = 250 „

Quotient: $\frac{2000-275}{2000} = 0{,}86$

3) Serum 100-fach verdünnt.
1 ccm Serum verd. = 200 AE.
1 „ C = 5 „

Quotient: $\frac{200-5{,}5}{200} = 0{,}97$

11. Nov. Blutentnahme. Titer: 1666 AE.

1) Serum voll.
1 ccm C = 500 AE.

Quotient: $\frac{1666-550}{1666} = 0{,}67$

2) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm Serum verd. = 166 AE.
1 „ C = 40 „

Quotient: $\frac{166-44}{166} = 0{,}73$

3) Serum 100-fach verdünnt.
Quotient: 1,0

14. Nov. Blutentnahme. Titer: 500 AE.

1) Serum voll.
1 ccm C = 400 AE.

Quotient: $\frac{500-440}{500} = 0{,}12$

2) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 33 AE.

Quotient: $\frac{50-36}{50} = 0{,}28$

18. Nov. Blutentnahme. Titer: 600 AE.

1) Serum voll.
1 ccm C = 500 AE.

Quotient: $\frac{600-550}{600} = 0{,}08$

2) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 33 AE.

Quotient: $\frac{60-36}{60} = 0{,}4$

21. Nov. Blutentnahme. Titer: 333 AE.

1) Serum voll.
1 ccm C = 280 AE.

Quotient: $\frac{333-308}{333} = 0{,}07$

2) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 16 AE.

Quotient: $\frac{33{,}3-17{,}6}{33{,}3} = 0{,}47$

Abschwächungsversuch II.

Serum eines Kaninchens, das 6 Typhusinjektionen erhielt; die letzte am 24. Okt. (Blutentnahme 16. Nov.).

Absorptionsquotienten.

1 ccm Serum = 16 666 AE.

1) Serum voll.
1 ccm C = 6666 AE.

Quotient: $\frac{16\,666-7332}{16\,666} = 0{,}56$

2) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 333 AE.

Quotient: $\frac{1666-366}{1666} = 0{,}77$

3) Serum 100-fach verdünnt.
1 ccm C = 33 AE.

Quotient: $\frac{166-36}{166} = 0{,}77$

Am 16. Nov. einem normalen Kaninchen 18 ccm dieses Serums intravenös eingespritzt. Nach 1 Stunde Blutentnahme.

1) Serum voll.
1 ccm = 6666 AE.
1 „ C = 1000 „

Quotient: $\frac{6666-1100}{6666} = 0{,}83$

2) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm Serum = 100 AE.

Quotient: $\frac{666-110}{666} = 0{,}83$

3) Serum 100-fach verdünnt.
1 ccm C = 1,6 AE.

Quotient: $\frac{66-1{,}7}{66} = 0{,}96$

Am 20. Nov. Blutentnahme.

1) Serum voll.
1 ccm = 625 AE.
1 „ C = 400 „

Quotient: $\frac{625-440}{625} = 0{,}29$

2) Serum 50-fach verdünnt.
1 ccm C = 1,2 AE.

Quotient: $\frac{12{,}5-1{,}3}{12{,}5} = 0{,}89$

Am 23. Nov. Blutentnahme.

1) Serum voll.
1 ccm = 250 AE.
1 „ C = 200 „

Quotient: $\frac{250-220}{250} = 0{,}12$

2) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 12,5 AE.

Quotient: $\frac{25-13{,}7}{25} = 0{,}45$

B. In vitro.

Serum vom Versuch I (Blutentnahme 4. Nov.) war mit Zusatz von ½-proz. Karbolsäure im Brutschrank bei 37° aufbewahrt worden. Prüfung am 20. Nov.

1 ccm Serum = 50 000 A.E.

1) Serum 10-fach verdünnt.
1 ccm C = 3333 AE.

Quotient: $\frac{5000-3666}{5000} = 0{,}27$

2) Serum 100-fach verdünnt.
1 ccm C = 250 AE.

Quotient: $\frac{500-275}{500} = 0{,}45$

3) Serum 1000-fach verdünnt.
1 ccm C = 10 AE.

Quotient: $\frac{50-11}{50} = 0{,}78$

Serum vom Versuch II (Blutentnahme 16. Nov., Prüfung am 21. Nov.).

1 ccm Serum = 6666 AE.

1) Serum voll.
1 ccm C = 5000 AE.

Quotient: $\frac{6666-5500}{6666} = 0{,}17$

2) Serum 100-fach verdünnt.
1 ccm C = 33 AE.

Quotient: $\frac{66-36}{66} = 0{,}45$

3) Serum 500-fach verdünnt.
1 ccm C = 5 AE.

$$\text{Quotient: } \frac{13{,}2-5{,}5}{13{,}2} = 0{,}58$$

Uebersichtstabelle.
Abschwächungsversuch in vivo (I).

Zeit nach der Infektion	Wertigkeit des Serums	Wertigkeit in Proz.	Absorptionsquotienten für dargebotene Agglutinineinheiten 21—100	100—1000	1000—10 000	10 000—100 000
1 Stunde	20 000	100	> 0,97	0,97	0,86	0,78
7 Tage	1 666	8,3	> 0,73	0,73	0,67	—
10 „	500	2,5	0,28	0,12	—	—
14 „	600	3,0	0,40	0,08	—	—
17 „	333	1,6	0,47	0,07	—	—

Uebersichtstabelle.
Abschwächungsversuch in vivo (II).

Zeit nach der Iniektion	Wertigkeit des Serums	Wertigkeit in Proz.	Absorptionsquotienten für dargebotene Agglutinineinheiten 21—100	100—1000	1000—10 000
1 Stunde	6666	100	> 0,83	0,83	0,83
4 Tage	625	9,3	—	0,29	—
6 „	250	3,7	0,45	0,12	—

Uebersichtstabelle.
Abschwächungsversuche in vitro.

Versuch	Zeit nach der Blutentnahme	Wertigkeit des Serums	Wertigkeit in Proz.	Absorptionsquotienten für dargebotene Agglutinineinheiten 21—100	100—1000	1000—10 000
I	1 Stunde	166 666	100	> 0,97	0,97	0,83
	16 Tage	50 000	30,0	0,78	0,45	0,27
II	1 Stunde	16 666	100	> 0,77	0,77	0,77
	5 Tage	6 666	39,9	0,58	—	0,56
				0,45		0,17

Nach diesen Versuchen kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß tatsächlich schon nach kurzem Aufenthalt in der Blutbahn eine starke Abschwächung der Avidität bei den eingespritzten Agglutininen stattfindet. Aber auch der Reagenzglasversuch hat ein ganz analoges Resultat ergeben, so daß also wohl nichts im Wege stehen dürfte, mit Kraus beide Vorgänge miteinander zu identifizieren. Wenn wir daher in einem früheren Abschnitte davon sprachen, daß in den Immunseris verschieden avide Antikörper enthalten seien, und diese Verschiedenheit darauf bezogen, daß diese Antikörper eben aus ungleichen Zeitperioden der Immunisierung stammten, so müssen wir diese Auffassung nunmehr dahin ergänzen, daß auch durch den verschieden langen Aufenthalt in der Blutbahn an und für sich, bei ursprünglich gleichem Aviditätsgrad,

durch die vor sich gehende Abschwächung Differenzen erzeugt werden. Die älteren Antikörper werden hierbei nicht nur deshalb geringere Affinität aufweisen können, weil sie aus einer frühen Immunisierungsperiode stammen, sondern auch deshalb, weil sie längere Zeit hindurch den Abschwächungsvorgängen unterworfen waren.

Noch eine andere Tatsache geht übrigens aus unseren Versuchsprotokollen hervor, die bereits vor mehreren Jahren von Madsen[1]) und Joergensen[2]) festgestellt worden war: Nämlich, daß die in die Blutbahn eingeführten Agglutinine schon in den ersten Tagen nach der Injektion eine beträchtliche Abnahme erfahren, daß die Zerstörung (bezw. Ausscheidung) derselben jedoch später in viel langsamerem Tempo erfolgt. Es liegt gewiß nahe, die Abschwächung der Avidität als die erste Phase jenes Vorganges zu betrachten, welcher schließlich zur vollkommenen Zerstörung der Agglutinine führt, wie dies auch Kraus bereits ausgesprochen hat.

Nun hat sich Madsen bemüht, die Abnahme der Antikörper im passiv immunisierten Organismus genauer und zwar besonders nach der quantitativen Richtung zu verfolgen und ist dabei zu so gesetzmäßigen Verhältnissen gelangt, daß er seine Beobachtungen in eine mathematische Formel einkleiden konnte. Diese Formel lautete:

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot x^{n+1}$$

wobei x die Menge der Antikörper, t die Zeit und k und n Konstanten bedeuten, die für jeden einzelnen Fall charakteristisch sind.

Die Formel sagt also aus, daß $\frac{dx}{dt}$, das ist die Geschwindigkeit, mit welcher die Antikörper aus dem Serum verschwinden, in jedem gegebenen Moment proportional einer Potenz des jeweiligen Antikörpergehaltes ist. Je höher also der Serumtiter, desto größer auch die ceteris paribus in der Zeiteinheit zerstörte oder ausgeschiedene Menge der Antikörper.

Nun gilt diese Formel allerdings zunächst nur für normale Tiere, welchen Antikörper durch passive Immunisierung beigebracht worden waren. Es liegt jedoch wohl kein Grund vor, anzunehmen, daß das Schicksal der Antikörper im aktiv immunisierten Tier ein anderes wäre, und man wird daher wohl auch für diesen Fall voraussetzen dürfen, daß die Menge der jederzeit zu Verlust gehenden Antikörper mit deren Konzentration sich steigert. In der Tat hat auch Madsen bei aktiv immunisierten Tieren die Gültigkeit seiner Formel bestätigen können, wenn er die Abnahme der Agglutinine von jenem Zeitpunkte an verfolgte, wo das Maximum des Serumtiters erreicht worden war.

Wir werden auf diese wichtige Tatsache bald zurückzukommen haben.

Welche Folgerungen ergeben sich nun aber aus unseren Experimenten für die uns interessierende Frage? Ist durch die Tatsache, daß in der Blutbahn eine Abschwächung der Aviditäten stattfindet, nun auch schon bewiesen, daß die niedrige Avidität, die wir nach langem Aussetzen der immunisatorischen Behandlung bei unseren Versuchstieren beobachtet haben, nur auf diese Weise zu erklären ist, und

1) Madsen, The decrease of antibodies in the organism.
2) Joergensen and Madsen, The fate of typhoid and cholera agglutinins etc. (Contribution from the Universit. Labor. etc.) Copenhagen (Salomonsen) 1902.

daß nicht auch gleichzeitig eine Produktion weniger avider Agglutinine stattgehabt haben kann? Es liegt auf der Hand, daß dieser Schluß ein voreiliger wäre.

Wie läßt sich nun aber entscheiden, ob tatsächlich in jener späten Periode der Immunisierung bei unseren lange Zeit nicht mehr injizierten Tieren Agglutinine von maximaler Avidität produziert werden oder solche, die mit nur mehr geringen Affinitäten zu ihrem Antigen ausgestattet sind?

Ich glaube, daß eine Entscheidung dieser Frage auf Grund folgender Ueberlegungen möglich ist.

Wie schon durch die ersten grundlegenden Untersuchungen von Brieger und Ehrlich[1]) festgestellt worden war und nachher von einer größeren Zahl von Forschern, zuletzt von Jörgensen und Madsen[2]), bestätigt werden konnte, zeigt die Titerkurve bei aktiv immunisierten Tieren, welche eine 1malige Bakterieneinspritzung erhalten haben, ungefähr den folgenden Verlauf: Nach einer (für die Agglutinine) etwa 3—6 Tage andauernden Inkubationsphase tritt dann eine plötzliche Steigerung des Wirkungswertes auf, deren Maximum etwa am 7. bis 13. Tage (gewöhnlich am 9.—11.) nach der Injektion erreicht wird. Darauf folgt ein steil einsetzender Abfall, der jedoch nach und nach in ein langsames Absinken der Titerkurve übergeht, und endlich in eine verschieden lang anhaltende Phase des Antikörpergleichgewichtes ausklingt. Daran schließt sich dann als letztes Glied die Phase des definitiven Abfalls, welcher nach v. Dungern[3]) oft stufenweise erfolgt, derart, daß ein bestimmter niederer Serumtiter eine Zeitlang hindurch festgehalten wird, bis wieder ein erneuter Abfall eintritt und die Antikörper schließlich vollkommen aus dem Serum verschwinden.

Die Deutung dieses Verlaufs der Titerkurve, wie sie unter anderem auch Madsen gibt, ist eine sehr einfache und einleuchtende: Nach Ablauf der Inkubationsperiode beginnt die Produktion der Agglutinine, zuerst langsam einsetzend, dann immer intensiver werdend, bis ein gewisses Maximum derselben erreicht wird, was etwa 2—3 Tage der Fall sein dürfte, bevor die Agglutininkurve ihren Gipfelpunkt erklommen hat. Dann läßt die Agglutininproduktion wieder nach. Da nun fortwährend neben der Abstoßung der Agglutinine in die Blutbahn auch eine — von der Höhe des erreichten Serumtiters abhängige — Zerstörung der Agglutinine stattfindet, welche dem erstgenannten Vorgang entgegenarbeitet, so ist klar, daß bei dem Nachlassen der Produktion schließlich der Moment kommen muß, wo die Zerstörung über die Neubildung der Agglutinine überwiegt. Dann muß natürlich die Agglutininkurve so lange absinken, bis der Titer des Serums so niedrig geworden ist, daß die beiden antagonistischen Vorgänge sich die Wage halten, daß also nicht mehr Agglutinine aus dem Blute verschwinden, als gerade immer neu produziert werden. Damit ist aber die Phase des Antikörpergleichgewichtes erreicht.

Betrachten wir nun 2 Versuchstiere, deren eines eine einzige Bakterieneinspritzung erhalten hat, während das andere deren 6 bekommen hat, darauf aber längere Zeit in Ruhe gelassen wurde. Wie wir bereits wissen, ist die Avidität der Agglutinine bei dem ersteren, selbst auf der Höhe der Antikörperproduktion, eine relativ niedrige, während sie bei

1) Dtsche med. Wochenschr. 1892. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893.
2) l. c.
3) Die Antikörper. Jena 1903.

dem 6mal injizierten Tiere unmittelbar nach der letzten Einspritzung einen sehr bedeutenden Grad erreicht hat.

Fassen wir nun bei beiden Tieren einen Moment ins Auge, wo die Menge des im Serum vorhandenen Agglutinins die gleiche ist, beide somit denselben Serumtiter aufweisen. Da, wie bereits mehrfach erwähnt, die Intensität des Zerstörungsprozesses der Agglutinine — ceteris paribus und von individuellen Differenzen abgesehen — von der Höhe des Serumtiters abhängig ist, so wird also für diesen Moment die fortwährend in Verlust gehende und — so darf man wohl weiter schließen — auch die fortwährend dem Abschwächungsprozeß unterliegende Agglutininmenge die gleiche sein.

Befinden sich dabei die beiden Versuchstiere in einer annähernd stationären Phase, also im Antikörpergleichgewicht, so muß demgemäß auch die Menge neu produzierten Agglutinins bei denselben gleich groß sein.

Bei beiden Tieren herrschen daher vollkommen vergleichbare Verhältnisse: Sowohl die Menge der in der Zeiteinheit produzierten wie der zerstörten bezw. in ihrer Avidität abgeschwächten Agglutinine mußte in beiden Fällen genau dieselbe sein. Wenn nun die 6mal injizierten Tiere trotz der langen Pause in der immunisatorischen Behandlung fortfahren würden, hochavide Antikörper zu produzieren, so müßte dies unbedingt dadurch zum Ausdruck kommen, daß die durchschnittliche Avidität der Agglutinine in dieser Phase wesentlich größer wäre als bei den nur 1mal injizierten Tieren, welche wenig avide Produkte liefern.

Ganz die gleiche Schlußfolgerung gilt aber auch dann, wenn die 1mal injizierten Tiere nicht in der stationären Phase sich befinden, sondern in der Phase des Abfalls der Titerkurve einige Zeit nach erreichtem Gipfelpunkt. Denn in diesem Falle, wo die Zerstörung rascher vor sich geht als die Neubildung der Agglutinine, wird ja ein noch beträchtlicherer Anteil derselben aus einer früheren Phase (mit höherem Serumtiter) stammen, also bereits bis zu einem gewissen Grade in seiner Avidität geschädigt sein, und wird daher die durchschnittliche Avidität noch geringer, die Differenz gegenüber den 6mal injizierten Tieren um so auffälliger sein müssen.

Wir brauchen daher nur die einem gleichhohen Serumtiter entsprechenden Absorptionsquotienten beider Gruppen von Versuchstieren zusammenzustellen, und zwar für die 6mal injizierten die aus der stationären Phase stammenden Werte, für die 1mal injizierten die in der Periode des Titerabfalls, also vom 13. Tage an gewonnenen Quotienten, um mit größter Wahrscheinlichkeit entscheiden zu können, ob auch nach so langer Zeit von den erstgenannten Versuchstieren hochavide Agglutinine produziert werden oder nicht.

Diese Zusammenstellung ist in den folgenden Tabellen enthalten.

Aus diesen Tabellen geht nun hervor, daß die durchschnittliche Avidität bei unseren 6mal injizierten Versuchstieren nicht nur nicht höher war als die Avidität bei den 1mal eingespritzten, sondern sogar hinter derselben — wenn auch nicht sehr beträchtlich — zurückblieb. Somit erscheint es unmöglich, anzunehmen, daß die hochimmunisierten Kaninchen auch in dieser späten Phase noch Antikörper von großer Avidität produziert hätten, und es dürfte damit wohl bewiesen sein, daß tatsächlich auf die Periode der Aviditätssteigerung eine solche folgt,

Absorptionsquotienten.

Bei 1maliger Injektion vom 13. Tage an			Bei 6maliger Injektion und ½-jähriger Pause		
Wertigkeit des Serums	Zahl der dargebotenen AE.	Quotienten	Wertigkeit des Serums	Zahl der dargebotenen AE.	Quotienten
1000	1000	0,12	1000	1000	0,12
1250	1250	0,29	1666	1666	0,17
1000	1000	0,12	1666	1666	0,26
1000	1000	0,18	2000	2000	0,08
2000	2000	0,18	1818	1818	0,24
1000	1000	0,12			
	Mittel:	0,17		Mittel:	0,17
1000	143	0,42	1000	200	0,21
1250	250	0,45	1666	166	0,18
1000	100	0,28	1666	166	0,20
1000	100	0,34	2000	200	0,31
1250	125	0,45	1818	181	0,39
	Mittel:	0,39		Mittel:	0,26
Gesamtmittel	100—2000	0,27	Gesamt: mittel	100—2000	0,21

wo die Avidität der neu entstehenden Antikörper wieder zu den ursprünglichen niedrigen Werten zurückkehrt. Damit ist aber — wie wir bereits früher dargelegt haben — die Möglichkeit, daß die Aviditäten mit der Menge der bisher produzierten Antikörper oder auch nur mit der Zahl der gebildeten Antikörpergenerationen parallel gehen könnte, ausgeschlossen, und es bleibt somit nur noch zu untersuchen, ob die dritte früher aufgestellte Möglichkeit acceptabler erscheint: Die Möglichkeit nämlich, daß die Aviditäten mit der Intensität der Antikörperproduktion zusammenhängen könnten.

V.

Wenn man nun versucht, an der Hand unserer Experimente eine Beziehung zwischen Avidität und Intensität der Immunkörperproduktion aufzufinden, so dürfte dies wohl am leichtesten auf Grund der folgenden Ueberlegungen gelingen.

Man wird im allgemeinen wohl nicht fehlgehen, wenn man die Behauptung aufstellt, daß ein hoher Gehalt des Serums an Antikörpern darauf schließen läßt, daß diese letzteren aus einer Periode intensiver Produktion stammen müssen, während ein niederer Serumtiter umgekehrt darauf hindeutet, daß zu der Zeit, wo diese Antikörper gebildet wurden, ihre Neubildung und Abstoßung in das Blut eine weniger lebhafte war. Vollkommen streng gilt dieser Satz für die Phase der ansteigenden Titerkurve.

Besteht nun tatsächlich eine Beziehung zwischen der Avidität der Antikörper und der Intensität ihres Entstehungsvorganges, so war zu erwarten, daß diese Beziehung besonders dadurch deutlich ins Licht gesetzt werden konnte, daß man die bei unseren Versuchen gefundenen Absorptionsquotienten nach dem Wirkungswerte der Sera anordnete, der uns ja, wie eben ausgeführt wurde, einen gewissen Anhaltspunkt für die Beurteilung der Intensität der Antikörperproduktion liefert. Die folgende Tabelle bringt nun eine derartige Zusammenstellung, bei welcher nicht nur die Versuche meiner

ersten Mitteilung, sondern auch eine Reihe neuerer Experimente berücksichtigt worden sind. Wie man sieht, ist die Tabelle derart angelegt, daß in den vertikalen Stäben der Titer des zu den Versuchen dienenden Serums ansteigt, und zwar wurden, der leichteren Uebersichtlichkeit halber, 3 Stufen — natürlich bis zu einem gewissen Grade willkürlich — festgesetzt, welche einem Gehalt von 10—1000, von 1000—10000 und von 10000—100000 Agglutinineinheiten entsprachen. Wie bereits in früher mitgeteilten Tabellen, wurde natürlich auch hier die Zahl der zur Absorption dargebotenen Agglutinineinheiten, die, wie wir ja wissen, den Wert der Absorptionsquotienten wesentlich beeinflußt, in der Weise berücksichtigt, daß zwei Vertikalkolonnen nebeneinandergestellt wurden, deren eine die Quotienten bei 100—1000, die andere bei 1000—10000 dargebotenen Agglutinineinheiten enthält.

Bemerkt sei nur noch, daß in dieser Tabelle sowohl die Versuche mit 1maliger wie mit 6maliger Injektion aufgenommen wurden, ebenso auch die Experimente mit 1/2-jähriger Pause der immunisatorischen Behandlung nach 6maliger Bakterieneinspritzung.

Tabelle.

Wertigkeit des Vollserums in Agglutinineinheiten	Zahl der zur Absorption dargebotenen Agglutinineinheiten: 100—1000		Zahl der zur Absorption dargebotenen Agglutinineinheiten: 1001—10000	
100—1000	0,17 0,19 0,12 0,42 0,26 0,27 0,12 0,21 0,17 0,14 0,17	0,20	—	
1000—10000	0,45 0,45 0,63 0,42 0,18 0,45 0,20 0,56	0,41	0,26 0,02 0,26 0,17 0,29 0,26	0,21
10000—100000 und darüber	0,72 0,45 0,45 0,86 0,97 0,99 0,96 0,97	0,79	0,72 0,45 0,78 0,92 0,79 0,91 0,80 0,83	0,77

Diese Zusammenstellung zeigt nun außerordentlich deutlich, wie mit dem Wirkungswert der Immunsera, also mit der Zahl der in ihnen enthaltenen Agglutinineinheiten, auch die Absorptionsquotienten (für die gleiche Menge dargebotenen Agglutinins) ansteigen. Während z. B. der Serumtiter sich von den Werten, die zwischen 100 und 1000 Agglutinin-

einheiten gelegen waren, auf solche zwischen 10000 und 100000 Agglutinineinheiten erhöhte, wuchsen die entsprechenden Absorptionsquotienten (für 100—1000 dargebotene Agglutinineinheiten) im Mittel von 0,2 auf 0,79.

Ein Zusammenhang zwischen dem Agglutiningehalt der Sera und der Avidität dieser Antikörper scheint somit unverkennbar.

Nimmt man nun noch hinzu, daß wir in einer späteren Periode der Immunisierung, wo die Antikörperproduktion sicher nur mehr eine wenig lebhafte ist, auch wieder nur geringe Affinitäten gefunden haben, so wird man wohl, ohne den Tatsachen Zwang anzutun, als höchstwahrscheinlich annehmen dürfen, daß die Aviditäten der neuentstehenden Antikörper von der Intensität des Neubildungsvorganges abhängen und mit ihr steigen und fallen.

Welcher Art freilich dieser Zusammenhang ist, darüber bin ich einstweilen nicht in der Lage, irgend welche Vermutungen zu äußern. Es wäre nämlich ebensogut denkbar, daß dieser Zusammenhang ein direkter, unmittelbarer wäre, wie, daß beide Phänomene nur deshalb miteinander annähernd parallel verlaufen, weil dieselben von einer gemeinsamen Ursache bedingt werden, welche man wohl in dem eigenartigen Reizzustand der agglutininbildenden Zellen suchen müßte.

VI.

Die Ergebnisse unserer Versuche lassen sich ungefähr in folgender Weise zusammenfassen:

1) In Ergänzung früher mitgeteilter Befunde konnte nun auch durch Abspaltungsversuche dargetan werden, daß tatsächlich in agglutinierenden Immunseren Antikörper verschiedener Avidität nebeneinander vorhanden sind.

2) Diese Aviditätsdifferenzen sind zum Teil darauf zu beziehen, daß in den verschiedenen Immunisierungsperioden Antikörper verschiedener Avidität produziert werden, und nun gleichzeitig nebeneinander existieren.

3) Zum Teil rühren diese Differenzen aber auch daher, daß die Antikörper sowohl in vitro wie in vivo in der Blutbahn eine Abschwächung ihrer Affinitäten erleiden, und somit die aus früheren Immunisierungsperioden stammenden Antikörper bereits stärker geschädigt wurden als die jüngeren Ursprungs.

4) Als praktische Konsequenz dieser Tatsachen ergibt sich die Forderung, Heilsera nur in möglichst frischem Zustande zu verwenden, da die Avidität der Antikörper für den therapeutischen Effekt nicht gleichgültig sein kann.

5) Da außerdem auch die Phase der Immunisierung, in welcher das Immunserum gewonnen wird, von größtem Einfluß auf die Avidität der Antikörper ist, so wird auch darauf geachtet werden müssen, daß die Serumentnahme zu einem möglichst günstigen Zeitpunkt stattfinde.

(Natürlich müssen die besonderen optimalen Bedingungen für die verschiedenen Arten von Antikörpern durch eigene Versuche festgestellt werden, da ja ein Schluß von den Agglutininen auf die Antitoxine, Bakteriolysine etc. nicht ohne weiteres zulässig erscheint.)



6) Diese Forderung wäre in praxi dann nicht schwer zu erfüllen, wenn zu der Zeit des maximalen Serumtiters auch die Aviditäten ihren höchsten Wert erreichen wie bei den Agglutininen.

7) Versuchstiere, welche längere Zeit nach der letzten Bakterieneinspritzung untersucht werden, führen in ihrem Serum nur Antikörper von sehr geringer Avidität. Es wurde wahrscheinlich gemacht, daß dies nicht nur von der im Serum stattfindenden Affinitätsabschwächung herrühren kann, sondern daß in dieser Phase der Immunisierung offenbar auch wieder weniger avide Produkte entstehen.

8) Endlich konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die Avidität der produzierten Antikörper mit der Intensität des Neubildungsvorganges derselben zusammenhängt und mit ihr steigt und fällt.

Ist die Hämagglutination und Hämolyse, durch Ricin und Hämolysin hervorgerufen, eine Säurewirkung?

[Aus dem staatlichen sero-therapeutischen Institut in Wien. Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Dr. **M. v. Eisler.**

In einer fortlaufenden Reihe von experimentellen Untersuchungen hat sich v. Liebermann (1) mit der Aufgabe beschäftigt, eine bessere Kenntnis der komplizierten Immunkörperreaktionen zu gewinnen, dadurch daß er vorsuchte, diese Reaktionen auf einfache chemische Prozesse zurückzuführen resp. die Immunsubstanzen selbst als chemisch bekannte Körper zu charakterisieren. Er begann dabei mit dem Studium der einfacheren Prozesse, welche durch Ricin, Kieselsäure, Saponin hervorgerufen werden, um dann von diesen auf die Wirkungen zu schließen, welche die in ihrer Zusammensetzung viel komplizierteren Blutsera erzeugen.

Eigene Versuche, welche sich mit einigen der von v. Liebermann studierten Fragen beschäftigen, lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß die von v. Liebermann angeführten Versuche in anderer Weise gedeutet werden müssen, als es von diesem Autor geschehen ist.

I. Wirkung des Ricins auf die roten Blutkörperchen.

v. Liebermann erbringt zunächst den Nachweis, daß das an die Blutkörperchen gebundene Ricin durch Einwirkung schwacher Säuren wieder freigemacht werden kann, wie es Hahn und Trommsdorff (2) für Typhus- und Choleraagglutinine, Landsteiner und v. Jagič (3) für Serumagglutinine in ähnlicher Weise gezeigt haben. In den roten Blutkörperchen ist es das Stroma, nicht das Hämoglobin, welches sich mit dem Ricin verbindet, weil nur aus dem ersteren das Ricinagglutinin abspaltbar ist.

Das von Merk dargestellte Ricinpräparat reagiert schwach sauer und zwar entspricht die Acidität einer 2-proz. Ricinlösung $^{1}/_{6}$ einer Hundertstel-Normalsäure. Die von den durch Ricin agglutinierten Blut-

körperchen abfiltrierte klare Flüssigkeit enthält keine Säure mehr. Aus diesen beiden Umständen, der sauren Natur des Ricins und dem Verschwinden der Säure bei der Bindung des Ricins an die roten Blutkörperchen, schließt v. Liebermann, daß die Säure im Ricin die Agglutination der Blutkörperchen bewirke. Nach seiner Vorstellung verläuft die Agglutination durch Ricin in der Weise, daß sich die Säure im Ricin mit dem Stroma (Base) der Blutkörperchen verbindet und daß diese Verbindung aus der Flüssigkeit ausfällt. Die Abspaltung des Agglutinins aus den Blutkörperchen durch Säure wäre so zu erklären, daß die stärkere Säure sich nun mit dem Stroma (Base) verbindet und dadurch das Ricin frei wird.

Diese Hypothese v. Liebermanns scheint mir durch seine Ausführungen nicht genügend begründet.

Wenn auch die beiden Punkte seiner Beweisführung, die saure Reaktion des Ricins und das Verschwinden dieser Säure nach der Agglutination, ohne weiteres zuzugeben sind, so zwingt uns doch deswegen nichts zur Annahme der Säurenatur des Ricinagglutinins. Denn wie v. Liebermann selbst erwähnt, ist das Merksche Ricinpräparat nicht einheitlicher Natur, eine genauere Zusammensetzung ist uns, so wie bei den anderen Antigenen unbekannt, daher beweist die Bindung der Säure im Ricin an die roten Blutkörperchen noch nichts für seine Rolle bei der Agglutination, wenn auch deshalb der saure Charakter des Ricinagglutinins keineswegs in Abrede gestellt werden soll. Eine solche Vorstellung wurde zuerst von Landsteiner und v. Jagič (4) entwickelt. Durch den Vergleich der Reaktionen, welche durch anorganische Kolloide hervorgerufen werden, mit den Serumkörperreaktionen kamen die beiden Autoren dazu, die Agglutination als abhängig von dem Salzbildungsvermögen der reagierenden Stoffe anzusehen in Analogie zu den Vorgängen bei der Färberei. Es ist ferner wohl zulässig, den Proteinen resp. den bei den Immunkörperreaktionen in Betracht kommenden Körpern Salzbildungsvermögen zuzuschreiben, und zwar wären diese Körper infolge ihres amphoteren Charakters befähigt, sowohl mit sauren als basischen und amphoteren Stoffen in Beziehung zu treten. In Anbetracht dessen, daß es sich bei diesen Vorgängen um die Einwirkung zweier Kolloide aufeinander handelt, dürfte es bei der nahen Verwandtschaft zwischen lockeren Salzbildungen und Adsorptionen ohne weiteres gestattet sein, diese Verbindungen auch als Adsorptionen aufzufassen, namentlich im Hinblick auf die leichte Reversibilität der uns hier beschäftigenden Verbindung Ricin + Blutkörperchen. Bei einer solchen Betrachtungsweise erklärt sich auch ungezwungen die Einwirkung des Ricins auf Blutkörperchen, bei wechselnden Mengenverhältnissen. So z. B. gelingt es, eine bestimmte Menge Kaninchenblut mit einer 2-proz. Ricinlösung aber auch noch mit einer 0,7-proz. Lösung zur Agglutination zu bringen. Das Hauptgewicht bei diesen Erscheinungen wäre also auf die kolloidale Beschaffenheit und die damit verbundenen Eigenschaften der reagierenden Körper, namentlich auf das Vermögen, Verbindungen sowohl mit sauren als basischen und amphoteren Körpern einzugehen, worauf eben Landsteiner hingewiesen hat, zu legen.

Gerade auf diesen Umstand scheint aber v. Liebermann kein Gewicht zu legen, denn nach seinen Ausführungen würde der Säure als solcher im Ricin die agglutinierende Wirkung zukommen.

Diese Vorstellung kann keine befriedigende Erklärung für die hier in Betracht kommenden Reaktionen geben. Vor allem wäre es bei dieser Anschauungsweise nicht verständlich, warum Säuren, die in ihrem

Aciditätsgrad einer bestimmten Ricinlösung entsprechen, nicht die gleichen Erscheinungen wie diese Substanz hervorzurufen im stande sind.

Solche Versuche, die ich zu wiederholten Malen unternommen habe, sind aber immer gescheitert. Die 2-proz. Merksche Ricinlösung entspricht, wie schon erwähnt, ungefähr einer $^1/_{500}$ normalen Säure. Niemals konnte ich bei diesem und ähnlichen Säuregraden eine Ausflockung der roten Blutkörperchen beobachten, auch bei Untersuchung verschiedener Blutarten (Hammel, Kaninchen, Ziege) nicht. Erst bei viel stärkerer Acidität trat Agglutination auf. Zu diesen Versuchen wurden gewaschene Blutkörperchen von Kaninchen, Hammel und Ziege verwendet. Von dem gewaschenen Blut wurden 5—10-proz. Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung gemacht. Zu je 0,5 ccm dieser Blutaufschwemmungen wurden abgestufte Salzsäuremengen zugesetzt. Die Verdünnungen der Säure wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht.

Kaninchenblut.

Normalsäure	Zusatz von Säure	Blutmenge	Resultat
$^1/_{20}$	2 Tropfen	0,5 ccm	starke Aggl., Spur Hämolyse
$^1/_{20}$	1 „	0,5 „	Aggl.
$^1/_{40}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{100}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{500}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{1000}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{5000}$	1 „	0,5 „	θ

Hammelblut

Normalsäure	Zusatz von Säure	Blutungen	Resultat
$^1/_{20}$	2 Tropfen	0,5 ccm	starke Aggl., Hämolyse
$^1/_{20}$	1 „	0,5 „	Aggl., Spur Hämolyse
$^1/_{40}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{100}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{500}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{1000}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{5000}$	1 „	0,5 „	θ

Ziegenblut.

Normalsäure	Zusatz von Säure	Blutmenge	Resultat
$^1/_{20}$	2 Tropfen	0,5 ccm	Spur Aggl., starke Hämolyse
$^1/_{20}$	1 „	0,5 „	Aggl., Hämolyse
$^1/_{40}$	1 „	0,5 „	Hämolyse
$^1/_{100}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{500}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{1000}$	1 „	0,5 „	θ
$^1/_{5000}$	1 „	0,5 „	θ

Aehnliche Versuche wurden öfters mit dem gleichen Resultate wiederholt. Die Agglutination war je nach der Dichte der Aufschwemmung zwischen $^1/_{10}$—$^1/_{20}$-Normalsalzsäure zu beobachten. Da nun z. B. Kaninchenblut (5-proz.) noch momentan von 1 Tropfen einer 0,2-proz. Ricinlösung agglutiniert wird (Säuregrad $^1/_{5000}$-Normalsäure), so ist die zur Agglutination nötige Säuremenge ungefähr 500mal größer als die in der entsprechenden Ricinmenge enthaltene. Ferner zeigt sich aus den

Versuchen, daß alle 3 genannten Blutarten nur geringe Schwankungen bezüglich des Säuregrades bei ihrer Ausflockung zeigen. Unterschiede zeigen sich nur insofern, als die Agglutination beim Ziegenblut wegen der bei diesen Säuregraden auftretenden beträchtlichen Hämolyse schwerer beobachtet werden kann. Auf diese größere Empfindlichkeit des Ziegenblutes gegen Säurewirkung im Vergleiche zu Kaninchenblut haben Landsteiner und ich (5) schon früher hingewiesen. Die Agglutinabilität durch Ricin unterliegt aber bei verschiedenen Blutarten nicht unbeträchtlichen Schwankungen. So braucht man z. B. zur Erzielung des gleichen Agglutinationseffektes bei Hammelblut ungefähr die 10-fache Ricinmenge als bei Kaninchenblut.

Die Agglutination durch Säuren ist von einem bestimmten Aciditätsgrade abhängig. So trat in einem Versuche mit Hammel- und Kaninchenblut bei Zusatz von je 2 Tropfen $^1/_{20}$ Normalsalzsäure zu je 0,5 ccm 10-proz. Blutaufschwemmung auch nach 15 Minuten noch keine Agglutination ein. 2 Tropfen $^1/_{20}$-Normalsalzsäure + 1 Tropfen $^1/_{40}$-Normalsäure bewirkte bei beiden Blutarten sofort Ausflockung. Im Gegensatze zu diesem Verhalten ist die Ricinagglutination in viel weiteren Grenzen von Säure oder Laugenzusatz unabhängig. Im Gegenteil scheint sogar Alkalizusatz die Ricinagglutination zu fördern, Säurezusatz in einzelnen Fällen etwas zu verzögern. Doch ist diese Hemmung nicht konstant und bewirkt nach meinen Versuchen höchstens eine mäßige Verzögerung der Agglutination. v. Liebermann führt auch an, daß dieser Einfluß von Säure und Lauge auf die Ricinagglutination nur bei Kaninchenblut deutlich sei.

Nach dem Vorgange von Kraus (6), dem es gelang, in einer Mischung zweier Blutarten durch Abrinzusatz eine Trennung durchzuführen, habe ich z. B. je 0,5 ccm 5-proz. Kaninchenblut mit 0,5 ccm Hammelblut gemischt. Zu der einen Probe wurden 2 Tropfen einer 0,2-proz. Lösung von Ricin, zu der anderen 2 Tropfen einer $^1/_{10}$-Normalsalzsäure gesetzt. Nach 5, 10 und 15 Minuten wurde mikroskopisch untersucht. In der Probe mit Säure waren schon nach 5 Minuten bloß Häufchen von agglutinierten Blutkörperchen zu sehen. Im Ricinpräparat dagegen konnte man auch nach 15 Minuten neben großen Haufen agglutinierter Blutkörperchen (Kaninchen) zahlreiche einzelne Blutzellen beobachten.

Die bisher angeführten Versuche dürften wohl genügen, um den Unterschied zwischen Ricin- und Säureagglutination zu zeigen. Uebrigens erwähnt auch v. Liebermann, daß die Verbindung der Blutkörperchen mit stärkeren Säuren einen ganz anderen Charakter haben dürfte, als die Ricin-Stroma-Verbindung. Schwächere Säuren, die dem Ricin entsprechen, haben aber, wie gezeigt wurde, überhaupt keinen Einfluß auf Blut, so daß durch den Nachweis einer schwachen Säure im Ricin und ihrer Bindung an die Blutzellen noch keine genügende Erklärung des Agglutinationsvermögens geboten wird. Erst durch die früher gegebene Betrachtungsweise im Sinne der Kolloidchemie (Landsteiner) wäre eine solche gegeben.

Noch wäre auf einen wichtigen Umstand aufmerksam zu machen. Die Säuremengen, welche Agglutination bewirken, sind auch von einer mehr oder weniger intensiven Hämolyse gefolgt, welche sich in ihrem Grade nach der Empfindlichkeit der betreffenden Blutart gegen Säure und Lauge (Landsteiner und v. Eisler) richtet. Ein solches Verhalten kann für die Ricinagglutination nicht ohne weiteres behauptet werden.

II. Hämolytische Sera.

v. Liebermann nimmt in Konsequenz seiner Anschauungen, nach denen das Agglutinin an Stelle des Hämoglobins sich mit dem Stroma verbindet, so daß dieses frei wird, an, daß die Agglutination immer von Hämolyse begleitet sei. Solche einfache, schematisierende Vorstellungen wie Eintritt des Agglutinins an Stelle des Hämoglobins dürfte hier wohl kaum berechtigt sein. Daß die von Ricin und Abrin agglutinierten Blutkörperchen eine gewisse Schädigung erlitten haben, vermöge welcher sie für verschiedene Einflüsse empfänglicher sind, wurde schon wiederholt beobachtet. Derartig vorbehandelte Blutkörperchen lassen schon nach kräftigem Schütteln und Erwärmen auf 37° C. einen Teil ihres Hämoglobins austreten. Solche Versuche hat auch v. Liebermann gemacht. Diese Schädigung wird aber erst bei Zusatz größerer Ricinmengen deutlich[1]).

Jedenfalls aber dürften diese mehr oder weniger geringfügigen Schädigungen der Blutkörperchen nicht mit dem Prozeß der Hämolyse, wie er z. B. durch ein Blutkörperchenimmunserum zu stande kommt, in eine Linie zu setzen sein. v. Liebermann bemüht sich nun, seine für die Ricinagglutination gewonnenen Anschauungen auch auf hämolytische und agglutinierende Sera zu übertragen. Die auch für das Serumagglutinin durchgeführten Abspaltungsversuche bringen nichts Neues (Landsteiner und v. Jagič). Ferner zeigt v. Liebermann, daß das hämolytische Vermögen eines Blutkörperchenimmunserums durch Zusatz einer bestimmten Menge Alkali aufgehoben, dessen Agglutinationsvermögen aber erhalten bleibe.

Dieser Versuch scheint mir übrigens wenig im Sinne v. Liebermanns zu sprechen, der zur Annahme einer Identität von Agglutininen und hämolytischen Immunkörpern geneigt ist und sie als säureartige Körper definiert. Das Ausbleiben der Hämolyse bei Alkalizusatz faßt v. Liebermann als Folge der Neutralisation des Immunkörpers (Säure) durch das Alkali auf. Warum wird durch das Alkali nicht auch das Agglutinin unwirksam? Als säureartiger Körper würde doch auch das Agglutinin durch den Alkalizusatz neutralisiert sein. Wie will ferner v. Liebermann dieses Verhalten, Agglutination ohne Hämolyse, mit seiner früheren Behauptung in Einklang bringen, daß die Agglutination immer von Hämolyse gefolgt sein müsse? Natürlich beweist dieser Versuch auch nicht im geringsten das von v. Liebermann behauptete Erhaltenbleiben der Agglutinationskraft. Offenbar ist dem Autor dabei die agglutinierende Wirkung der Lauge an und für sich entgangen. Das ist um so merkwürdiger, als v. Liebermann selbst eine Tabelle gibt, in der er zeigt, daß Lauge allein, selbst in geringeren Mengen, als sie zur Inaktivierung des hämolytischen Serums notwendig sind, Blutkörperchen agglutiniert.

Eine weitere Stütze für seine Hypothese sieht v. Liebermann darin, daß es ihm gelang, durch Zusatz derjenigen Menge Säure, welche genau der zur Inaktivierung des hämolytischen Serums nötigen Alkalimenge entspricht, die lösende Kraft des Serums wiederherzustellen. v. Liebermann schließt aus diesem Versuche, daß der als Komplement bezeichnete Serumbestandteil durch das Alkali nicht vernichtet wird.

Versuche über Reaktivierung des durch Alkalizusatz unwirksam gemachten Hämolysins durch Säurezusatz haben Hecker (7) und auch

1) In ähnlicher Weise wirken auch die von Landsteiner und Raubitschek (Centralbl. f. Bakt. 1908) untersuchten Extrakte aus den Samen verschiedener Papilionaceen in hohem Grade agglutinierend, ohne Hämolyse zu bewirken.

ich gemacht, und bestätigen diese Versuche die Angaben v. Liebermanns. Die v. Liebermannschen Versuche über das Unwirksamwerden des hämolytischen Serums durch Alkalizusatz müssen aber anders gedeutet werden, als es von diesem Autor, Neutralisation des Immunkörpers (Säure) durch das Alkali, geschehen ist. Zu diesem Zwecke mögen die folgenden Versuche angeführt werden. Als hämolytisches System wurde ein Hammelblut-Kaninchenimmunserum und normales Meerschweinchenserum als Komplement benutzt. Zu 2 ccm 5-proz. gewaschener Hammelblutaufschwemmung wurden 0,02 ccm Immunserum in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 0,05 oder 0,1 ccm Meerschweinchenserum zugesetzt. Nach einem $^1/_2$-stündigen Aufenthalt im Brutschrank war Hämolyse eingetreten. Zu je 2 ccm 5-proz. Hammelblut + 0,02 ccm Ambozeptor in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden entweder 2 ccm $^1/_{100}$-Normal-NaHO oder 2 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung zugesetzt. Diese Proben blieben behufs Bindung des Ambozeptors $^1/_2$ Stunde stehen; dann wird scharf abzentrifugiert. Die vollkommen klare Flüssigkeit über den Blutkörperchen läßt sich vollständig abgießen. Zu den alkalisch beladenen Blutkörperchen (d. i. 2 ccm Blut + Immunserum + 2 ccm $^1/_{100}$-Normal-NaOH) werden 2 ccm Kochsalz + 0,1 ccm Meerschweinchenserum zugesetzt, zu den neutral beladenen Blutkörperchen 2 ccm $^1/_{100}$-Normal-NaOH + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. In der ersten Probe tritt nach $^1/_2$ Stunde komplette Hämolyse ein, die andere Probe bleibt dauernd ungelöst. Der Abguß der ersten Probe (alkalisch) wird mit 2 ccm $^1/_{100}$-Normal-HCl neutralisiert, zum zweiten Abguß (neutral) 2 ccm Kochsalzlösung zugesetzt. Dann kommt in beide Proben 2 ccm Hammelblut + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. Im Abguß der neutral beladenen Blutkörperchen tritt niemals Hämolyse auf, in dem der alkalisch beladenen nach längerer Zeit partielle Hämolyse. Aus diesem Versuch geht also hervor, daß trotz Anwesenheit von Alkali der Ambozeptor (Säure) ohne weiteres von den Blutkörperchen gebunden wird, wie die Hämolyse bei Komplementzusatz beweist. Umgekehrt tritt bei den neutral beladenen Blutkörperchen trotz zweifelloser Bindung des Ambozeptors bei Zusatz von Alkali + Komplement keine Lyse auf. Der Abguß der neutralen Blutkörperchen enthielt keinen Ambozeptor mehr, da keine Hämolyse mehr nach Komplementzusatz auftrat. Im Abguß der alkalischen Blutkörperchen war nach Zusatz von Komplement noch etwas Hämolyse aufgetreten; es muß also noch ein geringer Anteil des Immunserums der Bindung durch die Blutkörperchen im alkalischen Medium entgangen sein. Diese etwas geringere Bindungsfähigkeit bei Anwesenheit von Alkali mag unschwer in der quellenden Wirkung des Alkali auf die Blutkörperchen eine Erklärung finden. Nichtsdestoweniger ist die Bindung des Immunkörpers bei Anwesenheit von freiem Alkali zweifellos, weil ja nach Zusatz von Komplement zu derartig vorbehandelten Blutkörperchen in $^1/_2$ Stunde komplette Hämolyse eintritt.

In einem anderen Versuche wurden 2 ccm 5-proz. Hammelblut + 2 ccm $^1/_{100}$-Normal-NaOH mit nur 0,01 ccm Immunserum zusammengebracht; diese Menge des Ambozeptors bringt mit entsprechendem Komplementzusatz in einer Kontrollprobe nach $^3/_4$ Stunden Hämolyse hervor, dürfte also schon die Grenze der einfach lösenden Dosis erreichen. Aber auch bei dieser Versuchsanordnung war trotz Gegenwart von 2 ccm $^1/_{100}$-Normal-NaOH genügend Ambozeptor gebunden worden. Denn nach Abcentrifugieren der Blutkörperchen und Versetzen mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum trat noch komplette Hämolyse ein.

Da nun, wie frühere Versuche gezeigt haben, das Komplement durch Alkalizusatz in den hier angewendeten Mengen nicht zerstört wird, sondern bloß nicht zur Wirkung gelangt, da ich ferner zeigen konnte, daß der Ambozeptor trotz des freien Alkali ohne weiteres von den Blutkörperchen gebunden wird, so ist wohl die Annahme gestattet, daß die Verbindung zwischen beladenen Blutkörperchen und Komplement bei Anwesenheit einer bestimmten Menge freien Alkalis nicht zu stande kommt, keineswegs aber ist die Auffassung von v. Liebermann berechtigt, welcher behauptet, daß das Ausbleiben der hämolytischen Wirkung durch Zusatz von Alkali auf Neutralisation des Ambozeptors (Säure) zurückzuführen sei.

Literatur.

1) Arch. f. Hygiene. 1907.
2) Münch. med. Wochenschr. 1900.
3) Münch. med. Wochenschr. 1903.
4) Münch. med. Wochenschr. 1904.
5) Münch. med. Wochenschr. 1904.
6) Zeitschr. f. Heilkunde. 1902.
7) Arbeiten a. d. kgl. Institut f. exp. Therap. zu Frankfurt a. M. 1907.

Ueber Coliagglutinine.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.]

Von Dr. **A. Geisse,** Volontärassistent.

Bei neuerlichen Untersuchungen, die Schottelius an steril gezüchteten Hühnchen anstellte, hatte sich ergeben, daß Coli-Bakterien, die er aus natürlicher Kuhmilch züchtete, imstande waren, für sich allein die Darmverdauung steriler Hühnchen so günstig zu beeinflussen, daß diese Tiere sich gleich solchen mit normaler Darmflora entwickelten, während sterile Kontrollhühnchen in etwa 30 Tagen trotz guter Futteraufnahme an Entkräftung zu Grunde gingen.

Diese Beobachtungen veranlaßten mich, mittels des Agglutinationsverfahrens bei gesunden Individuen die biologischen Beziehungen zu ihren eigenen normalen Coli-Bakterien zu untersuchen.

Die Literatur [1]) über diesen Gegenstand ist keine sehr ausgedehnte; das näherliegende große Interesse, welches man der pathologischen Bedeutung der Coli-Bakterien entgegenbrachte, ließ ein genaueres Eingehen auf die speziellen Verhältnisse der Agglutination beim gesunden Individuum nur gelegentlich zu.

Und doch verdienen die normalen Coli-Agglutinine auch vom pathologischen Standpunkte besondere Berücksichtigung, denn wenn anders wir unter natürlichen Verhältnissen das Auftreten von Agglutininen als einen gewissen, leicht kenntlichen Maßstab für die Gesamtimmunisierung des Körpers auffassen, so können wir vielleicht den normalen Agglutinationstiter des Blutserums gegen Coli-Bakterien als Index der Immunität gegen Coli-Infektionen, wie sie im täglichen Leben ohne besonders hervortretende Krankheitssymptome abzulaufen pflegen, auffassen.

---

1) Siehe Zusammenstellung von Escherich und Pfaundler bei Kolle-Wassermann. II.



Aber nicht das allein: So gut wie wir Gruppen- oder Mitagglutinine auftreten sehen, so gut kann man auch an eine Mitimmunität denken. Wir wissen ja, daß man im Tierversuch mit einer Bakterienart nicht nur gegen diese selbst, sondern auch gegen andere, oft kulturell fernstehende Keime bis zu einem gewissen Grade immunisieren kann. In gleicher Weise können wir wohl auch eine im Daseinskampf erworbene Coli-Immunität als Schutzkraft gegen eine Reihe anderer Infektionen auffassen, die, wie die Erfahrung lehrt, zwar vielfach nicht ausreicht, um Erkrankung durch Coli-ähnliche Bakterien zu verhindern, deren Bedeutung deswegen aber doch eine sehr große sein kann. Ich möchte es für eine dankenswerte Aufgabe erachten, bei Endemieen durch Bakterien der Typhus-Coligruppe festzustellen, ob die Personen, welche trotz der gleichen Ansteckungsmöglichkeit von der betreffenden Infektion verschont bleiben, nicht auch durch einen hohen natürlichen Coli-Agglutinationstiter ausgezeichnet sind.

Grundbedingung für die Beurteilung dieser Frage ist vor allem, über Coli-Agglutinine gesunder Individuen genauere Anhaltspunkte zu gewinnen; dazu beizutragen ist der Zweck der folgenden kleinen Untersuchung.

Meine Technik war folgende: Eine Platinöse (2 mm lichte Weite) wurde mit 14—16-stündiger Agarkultur beschickt und diese Masse in etwa 5 ccm Bouillon subtil zerrieben. Je eine Oese von dieser Aufschwemmung wurde mit der gleichen Oese voll der in Betracht kommenden Serum-Kochsalzverdünnung als hängender Tropfen montiert. Das dazu gehörige Kontrollpräparat wurde, um eine etwaige Einwirkung der benutzten Kochsalzlösung (0,8 Proz.) auszuschließen und gleichzeitig um den Agglutinationspräparaten möglichst ähnliche physikalische Verhältnisse zu schaffen, jeweils aus einer Oese Kultur-Bouillonaufschwemmung und einer Oese Kochsalzlösung hergestellt. Die Untersuchung der Präparate und Notierung des Befundes erfolgte nach 24-stündigem Verweilen der Präparate bei Zimmertemperatur bei Vergrößerung Leitz: Okular 2, Objektiv 3. Nur bei dieser Vergrößerung deutlich sichtbare Agglutinationen galten als positiv. Natürlich wurden im Verlaufe der Untersuchungen auch stärkere Vergrößerungen des öfteren benutzt; ich fand dann besonders bei Oelimmersion fast in jedem Präparat, besonders am Tropfenrand, kleinere Bakterienhäufchen, die jedoch auch in den Kontrollen wiederholt zur Beobachtung kamen. Diese kleinen Gruppenbildungen traten bei der schwachen Vergrößerungen nicht hervor und konnten deshalb zu Trugschlüssen keine Veranlassung geben. Das von mir benutzte Serum war möglichst am gleichen Tage gewonnen und wurde nicht über 2 × 24 Stunden benutzt. (Aufbewahrung im Eisschrank.)

Zur Untersuchung dienten Coli-Stämme, welche durch Beweglichkeit, Gasbildung aus Traubenzucker, Milchsäurebildung charakterisiert waren. Große Schwankungen zeigte die Beweglichkeit, nicht nur daß dieselbe auf den einzelnen Nährmedien sehr verschieden war; ich hatte auch Stämme, die erst nach wiederholter Umzüchtung auf Bouillon beweglich wurden, und wiederum andere, die ihre Beweglichkeit einbüßten. Durchgängig zeigten Stämme mit kleineren Formen bessere Beweglichkeit[1]). Die Züchtung der Stämme erfolgte aus dem Ausgangsmaterial durch Schrägagarverdünnungskulturen, nur 3mal wurden Gelatineplatten verwandt. Von den 24 Coli-Stämmen stammten 18 von Menschen, 4 vom Tier und 2 aus Milch.

1) Wenn ausnahmsweise ein nicht beweglicher Stamm benutzt wurde, ist dies in der Tabelle angegeben.



Meine Resultate sind in folgenden Tabellen wiedergegeben:

a) Verhalten von Menschenserum (M) zu einem Stamm von Coli-Bakterien, welcher aus dem Darmkanal des gleichen Individuums gezüchtet wurde.

Serum		agglutiniert	Coli			
Serum	M_1	agglutiniert	Coli	M_1	bis	1:50
„	M_2	„	„	M_2	„	1:80
„	M_3	„	„	M_3	„	1:50
„	M_4	„	„	M_4	„	nicht[1])
„	M_5	„	„	M_5	„	1:300
„	M_6	„	„	M_6	„	1:300

b) Menschenserum im Verhalten zu Coli-Bakterien, die aus den Faeces anderer gezüchtet wurden.

Serum		agglutiniert	Coli			
Serum	M_2	agglutiniert	Coli	M_1	bis	1:15
„	M_3	„	„	M_2	„	1:90[2])
„	M_7	„	„	M_2	„	1:200
„	M_7	„	„	M_1	„	nicht
„	M_4	„	„	M_5	„	1:200
„	M_6	„	„	M_4	„	1:100

c) Verhalten von Tierserum zu menschlichen Coli-Bakterien.

Serum			agglutiniert	Coli			
Serum	Kuh I.	K_1	agglutiniert	Coli	M_3	bis	1:300
„		K_1	„	„	M_2	„	1:60
„		K_2	„	„	M_7		nicht
„		K_3	„	„	M_7	„	1:400
„		K_4	„	„	M_7	„	1:350
„		K_5	„	„	M_6	„	1:300
„	Kaninchen		„	„	M_5	„	1:60
„	Hammel		„	„	M_7		nicht
„	Kuh	K_2	„	„	M_8		nicht
„		K_3	„	„	M_8	„	1:150
„		K_4	„	„	M_8		nicht
„		K_5	„	„	M_8		nicht
„	Hammel		„	„	M_8	„	1:150

d) Tierserum im Verhalten zu Coli-Bakterien von Tieren.

Serum		agglutiniert		
Kuhserum K		agglutiniert ein eigenes Kuhcoli		1:240
Kaninchenserum Ka		„ „ „ Kaninchencoli		1:40
Schweineserum I		„ Schweinecoli I	bis	1:150
„	II	„ „ II	„	1:300
Kuhserum K		„ Kaninchencoli	„	1:300

e) Menschliches und tierisches Serum zum Milchcoli.

Serum		agglutiniert	Milchcoli			
Kuhserum	K_1	agglutiniert	Milchcoli	I		nicht
„	K_2	„	„	I	bis	1:200
Serum Mensch	M_5	„	„		„	1:200
Kuhserum	K_6	„	„	II		nicht

Des eventuellen Unterschiedes wegen untersuchte ich auch noch zwei Typhussera mit hohem Typhusagglutinationstitre auf ihr Verhalten zu Coli-Bakterien.

Serum			agglutiniert			
Serum eines	Typhuskranken G		agglutiniert	Coli M_5	bis	1:600
„	„	„ „	„	„ M_3	„	1:300
„	„	„ „ „	„	Milchcoli	„	1:20
„	„	Kaninchen mit Typhus geimpft	„	Kaninchencoli	„	1:20

Die angeführten Tabellen scheinen mir folgende Schlüsse zu gestatten.

Jeder Mensch führt in seinem Blute Coli-Agglutinine, deren Titre ein beträchtlich hoher (1:300) sein kann. Es dürfen deshalb bei Infektionen mit Verdacht auf Coli als Krankheitsursache Agglutinationen bis 1:300 diagnostisch nicht verwertet werden.

Zwischen dem Verhalten von Coli-Agglutinationen des menschlichen und tierischen Blutes zu den eigenen oder fremden Coli-Arten besteht

1) M_4 hatte vor $1^1/_2$ Jahren in Afrika zweimal Typhus durchgemacht, ist jetzt subjektiv gesund, hat aber häufig ruhrartige Stühle.

2) Diese Agglutination wurde versehentlich nicht bis zum Endwert austitriert.

kein grundsätzlicher Unterschied und ebensowenig lassen sich Coli-Arten durch Agglutination auf ihre Herkunft (ob direkt aus dem Darmkanal oder z. B. aus Milch gezüchtet) ansprechen.

Gleichzeitiges Vorhandensein von Typhusagglutininen scheint für die vorhandenen Coli-Agglutinine nicht von ausschlaggebender Bedeutung zu sein.

Ich untersuchte dann weiterhin Serum von neugeborenen Menschen und Tieren, die kein oder nur sehr wenig Coli im Darme hatten, im Verhalten zu Bact. coli.

a) Serum aus Nabelschnurblut neugeborener Menschen und von neugeborenen, sofort getöteten Meerschweinchen.

Serum			agglutiniert	Coli			
Serum	Neugeborener	1	agglutiniert	Coli	M_2	bis	1:40
„	„	1	„	„	M_8		nicht
„	„	2	„	„	M_1		nicht
„	„	2	„	„	M_8	„	1:40
„	„	2	„	„	M_5	„	1:60
„	„	3	„	„	M_4		nicht
„	„	3	„	„	M_8	„	1:40
„	neugeb. Meerschweinchen		„	Coli Kaninchen			nicht
„	„	„	„	„	M_8	„	1:20

Das Serum Neugeborener enthält also mitunter auch Coli-Agglutinine, aber in ganz wesentlich geringerer Menge resp. Stärke als das Serum älterer Individuen. Es ist wohl anzunehmen, daß dieselben aus dem mütterlichen Blute übertreten.

Stärker wirkende Coli-Agglutinine erwirbt sich der Mensch erst im Laufe des Lebens — vielleicht besonders im Säuglingsalter — als Reaktionsprodukte auf Reizwirkungen der eigenen Darmbakterien oder auf von Coli-Bakterien gelieferte Antigene, die er irgendwie aus dem Darmkanal in seinen Säftestrom aufnimmt.

Endlich untersuchte ich auch das Verhalten des Serums eines Menschen zu verschiedenen Coli-Stämmen seines eigenen Darmkanals.

Zu diesem Zwecke züchtete ich aus meinen eigenen Faeces 10 Stämme von Coli, die sonst biologisch identisch, sich durch Beweglichkeit voneinander unterschieden: 6 waren beweglich, 4 unbeweglich. Die Agglutinationsuntersuchung ergab:

Serum	M	agglutiniert	Coli	Stamm		bis	Titer
Serum	M	agglutiniert	Coli	1	(schwach beweglich)	bis	1:20
„	„	„	„	2	(unbeweglich)	„	1:200
„	„	„	„	3	(beweglich)	„	1:300
„	„	„	„	4	(unbeweglich)		nicht
„	„	„	„	5	(beweglich)	„	1:200
„	„	„	„	6	(unbeweglich)	„	1:60
„	„	„	„	7	(unbeweglich)	„	1:200
„	„	„	„	8	(beweglich)	„	1:300
„	„	„	„	9	(beweglich)	„	1:200
„	„	„	„	10	(beweglich)	„	1:300

An dieser Tabelle fällt vor allem auf, daß, wie auch in fast allen vorhergehenden Reaktionen, kein Stamm höher als 1:300 von normalem Serum agglutiniert wurde; während 3 Stämme also 30 Proz. diesen Titre zeigten, wurden 4 Stämme, gleich 40 Proz., bis zur nächst niedereren Verdünnung agglutiniert. Ganz verschieden hierzu verhalten sich die 3 restlichen Stämme. Es spricht dies wohl für die Zuverlässigkeit des Agglutinationsphänomens in seiner Verwertung zur Unterscheidung gewisser Bakterienarten überhaupt, wie im speziellen für die Zuverlässigkeit der von mir angewandten Untersuchungsmethode. Unter den 10 Stämmen sind anscheinend zwei verschiedene Arten Coli, von denen die eine mit größerer Beweglichkeit in naher Beziehung zu den Coli-Agglutininen des Blutes steht, während die zweite wenig oder gar nicht

bewegliche Form, die No. 1, 4, 6, geringe Beziehung zu den Coli-Agglutininen hat.

Während meine Untersuchungen im Gange waren, erschien im Deutschen Archiv für klinische Medizin. Bd. XCVI. Heft 3—4 eine Arbeit von Klieneberger: „Studien über Coliagglutinine unter besonderer Berücksichtigung der klinischen Verwertung von Coliagglutinationen“. Klieneberger veröffentlicht dort die Resultate seiner Untersuchungen über Coli-Agglutinine bei Patienten, die an Coli-Cystitis, -Pyelitis, -Cysto-Pyelitis erkrankt waren. Als Vorarbeit untersuchte er auch das Blut Neugeborener und gesunder Erwachsener. Seine hierbei gewonnenen Resultate differieren insofern von den meinigen, als er teilweise erheblich höhere Agglutinationstiters gefunden hat. Der Grund hierfür liegt meines Erachtens in der Verschiedenheit der Untersuchungsmethoden und in meiner absichtlich sehr strengen Beurteilueg der Agglutinationsvorgänge. Klieneberger sah bei Säuglingen positive Agglutination bei Verdünnungen bis zu 160 und bei Erwachsenen bis zu 1280, während meine entsprechenden Ziffern 60 und 300 sind.

Klieneberger bediente sich der M. Neisserschen Agglutinationsmethode. Er arbeitete mit formalinisierten, kühl aufbewahrten Bouillonkulturen und mit Serum, das mit 0,5 Proz. Phenol versetzt, einige Wochen im Eisschranke gestanden hatte.

A priori erscheint mir die Verwertung frischen Serums und möglichst junger Kulturen ohne Zusatz von Antisepticis weit mehr eine Darstellung der natürlichen Verhältnisse, wie sie im Tierkörper vorhanden sind, zu gewährleisten.

Meine Untersuchungen sind nicht umfangreich genug, um ein abschließendes Urteil über die Verwertbarkeit des Agglutinationsphänomens zur Unterscheidung der physiologischen Coli-Arten zu ermöglichen. Immerhin zeigen sie, daß der eingeschlagene Weg ein gangbarer ist und sie sollen mir daher zur Grundlage für weitere Arbeiten in dieser Richtung dienen.

Für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit bin ich Herrn Privatdozenten Dr. Küster zu Dank verpflichtet.

Weiteres über die sogenannten nichtbakteriellen Aggressine.

[Institut für klinische Medizin der kgl. Universität zu Genua (Direktor: Prof. E. Maragliano).]

Von Dr. **Ettore Tedeschi,** Privatdozenten und I. Assistenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

In einer vorläufigen Mitteilung (publiziert im Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 7) habe ich berichtet, daß es mir gelungen war, mit einem Protein, dem Abrin, eine Substanz unbekannter Natur zu erzeugen, die ich als zu dem Abrin gehöriges Aggressin bezeichnet habe.

Schon damals habe ich indessen einige Vorbehalte hinsichtlich der Bedeutung gemacht, die man dem Ausdrucke „Aggressin“ in meinem Falle beizumessen hat. Ich glaubte nämlich nicht, mit diesem Ausdrucke eine Substanz zu bezeichnen, die vollkommen identisch mit dem zuerst

von Bail studierten bakteriellen Aggressin ist; ich habe vielmehr einen Vergleich zwischen dem eigentlichen Wesen der bakteriellen Aggressine und dem eines Aggressins chemischen Ursprunges nicht für möglich gehalten. Betrachtet man in der Tat die Vorstellung vom Wesen der bakteriellen Aggressine, die Oskar Bail zuerst gegeben und später selbst abgeändert hat, und dann die Auffassung von Citron und Wassermann, so genügt dies, um sich davon zu überzeugen, daß der Gedanke an eine Identität zwischen den bakteriellen Aggressinen und denen, die ich als Aggressine chemischen Ursprungs bezeichnet habe, ein Irrtum wäre.

Indem ich in gewisser Weise von der Darstellung der inneren Natur des Aggressins absah, glaubte ich dagegen, den Ausdruck „Aggressin" beibehalten zu können, einzig und allein, um damit eine Substanz zu bezeichnen, deren Bildungsmechanismus und deren innere Natur nicht gut bekannt oder klar war, deren Wirkungen sich aber in jeder Weise biologisch analog derjenigen der bakteriellen Aggressine äußerte, d. h. sie förderte und vervielfachte die toxische Wirkung derjenigen chemischen Substanz, von welcher ich ausgegangen war.

Ich habe nun, wie wir im Folgenden sehen werden, darüber Klarheit zu schaffen gesucht, ob man auch die Analogieen zwischen den bakteriellen und den sogenannten chemischen Aggressinen unter anderen Gesichtspunkten noch weiter ausdehnen könnte. Ich muß aber schon gleich sagen, daß meine Untersuchungen nur ein geringes Ergebnis gehabt haben.

Durch das Ergebnis meiner Abrinuntersuchungen ermutigt, habe ich in diesem Jahre Versuche angestellt, um zu sehen, ob es möglich wäre, derartige sogenannte Aggressine mittels anderer, vom Abrin chemisch unterschiedenen Substanzen, und zwar vermittelst Alkaloiden zu erhalten (während das Abrin als ein Toxiprotein zu betrachten ist). Ich persönlich habe mich mit dem Nikotin beschäftigt, während die internen Zöglinge der Klinik, Berri und Belgrano, unter meiner Leitung das Cocain und das Morphin nach dieser Richtung hin untersuchten.

An dieser Stelle werde ich zunächst über meine Untersuchungen mit dem Nikotin berichten; alsdann werde ich summarisch die Ergebnisse, welche Berri und Belgrano erhalten haben, anführen, da dieselben schon in einer besonderen Arbeit (Gazz. degli Ospedali e delle Cliniche. Settembre 1907) veröffentlicht sind.

* * *

Meine Absicht war folgende: 1) Ich wollte untersuchen, ob es möglich ist, mit dem Nikotin ein zu dem Nikotin selbst gehöriges Aggressin zu gewinnen, 2) ob, wenn das Vorhandensein dieses Aggressins eventuell nachgewiesen war, dasselbe immunisierende Eigenschaften besaß, 3) ob das Serum dieser so immunisierten Tiere seinerseits immunisierende oder antiaggressive Eigenschaften besaß.

Das angewandte Nikotin stammte von der Firma Kahlbaum in Berlin. Meine erste Sorge war es natürlich, die kleinste tödliche Dosis festzustellen (indem ich mit der erforderlichen Vorsicht mit dieser außerordentlich flüchtigen Substanz arbeitete). Auf Grund meiner Versuche konnte ich konstatieren, daß unser Nikotin in einem Zeitraume, der zwischen 15 Minuten im Minimum und 8 Stunden im Maximum schwankte, tötete, wenn man es einem Kaninchen subkutan in einer Dosis von $^3/_4$ Tropfen pro Kilogramm Körpergewicht injizierte; 1 Tropfen pro Kilogramm tötete in 1—3 Minuten.

Injizierte man dagegen das Nikotin in die Pleurahöhle des Kaninchens, so genügte 1/4 und bisweilen 1/5 Tropfen pro Kilogramm Körpergewicht, um das Tier innerhalb 5 Minuten zu töten. Der Tod trat unter dem klassischen Bilde ein, von dem ich nur die Hauptsymptome andeuten will, nämlich Zittern, Unruhe, manchmal wahre Krämpfe, Hyperästhesie, Kontrakturen der Glieder und bisweilen Opisthotonus, Dyspnoe und oft Paralyse der hinteren und vorderen Extremitäten.

Waren so die toxischen Dosen festgestellt, so schritt ich zur Herstellung des eventuell aggressiven Exsudates, und zwar in derselben Weise, wie ich es beim Abrin getan habe, d. h. anstatt die Substanz direkt in die Pleurahöhle des Kaninches zu injizieren (wie es bei den Bakterienkulturen geschehen ist), ließ ich eine Injektion von 10 ccm Aleuronatemulsion in einem Zwischenraum von 14—16 Stunden vorangehen, und zwar in der Absicht, die Schnelligkeit der Resorption und Ausscheidung der chemischen Substanz, die ich dann in die Pleurahöhle injizieren wollte, zu vermindern. Auf diese Weise erreichte ich, daß das Nikotin, wenn auch nur kurze Zeit, in Kontakt mit dem Exsudat blieb. Die Menge des intrapleural injizierten Nikotins erreichte nach meinen kurz zuvor angeführten Voruntersuchungen im Maximum 1/5 Tropfen pro Kilogramm Körpergewicht.

Nach 12—14 Stunden tötete ich das Kaninchen und aspirierte, natürlich in aseptischer Weise, das in der Pleurahöhle entstandene Exsudat, welches nach seiner Zentrifugierung zu den Untersuchungen verwendet wurde.

Meinen Zielen entsprechend, wurden diese Untersuchungen in vier Reihen eingeteilt. Ich gebe hier nur schematisch die Resultate wieder und bemerke dabei, daß die sowohl für das Nikotin wie für das Exsudat und das Serum angegebenen Resultate sich immer auf 1 kg Körpergewicht des Tieres beziehen.

Erste Reihe.

Kaninchen a. Subkutane Injektion von 4 ccm Exudat — nach 15 Minuten ebenfalls subkutane Injektion von 3/4 Tropfen Nikotin. Fast plötzlich treten die klassischen Symptome auf und das Tier stirbt nach 4 Minuten.

Kaninchen b. Subkutane Injektion von 4 ccm Exsudat — nach 15 Minuten Injektion von 1/2 Tropfen Nikotin. Tod nach 6 Minuten.

Kaninchen c. Subkutane Injektion von 4,5 ccm Exsudat — nach 15 Minuten Injektion von 3/4 Tropfen Nikotin. Die Symptome treten anfangs sehr stark auf, dann nehmen sie an Schwere ab, um bald wieder stärker zu werden, bis schließlich der Tod des Tieres nach 12 Stunden eintritt.

Kaninchen d. Subkutane Injektion von 4 ccm Exsudat — nach 14 Minuten Injektion von 1/2 Tropfen Nikotin. Tod nach 5 Minuten.

Kaninchen e. Injektion von 4 ccm Exsudat — nach 15 Minuten Injektion von 1/3 Tropfen Nikotin. Tod nach 6 Minuten.

Kaninchen f. Injektion von 4 ccm Exsudat — nach 15 Minuten Injektion von 3/4 Tropfen Nikotin. Tod nach 2 1/2 Minuten.

Kaninchen g. Injektion von 3/4 Tropfen Nikotin. Tod nach 25 Minuten.

Kaninchen h. Injektion von 1/2 Tropfen Nikotin. Das Tier zeigt rasch Unruhe, Zittern, Kontrakturen. Dann werden die Erscheinungen schwächer und nach 4 1/2 Stunde nimmt das Kaninchen wieder normales Aussehen an und bleibt am Leben.

Kaninchen i. Injektion von 1/3 Tropfen Nikotin. Das Tier zeigt leichte Dyspnoe und ungefähr 20 Minuten lang Unruhe, dann aber nicht mehr.

Kaninchen l. Subkutane Injektion von 7 ccm Exsudat. Das Tier zeigt kein Symptom einer Nikotinvergiftung und befindet sich wohl.

Zweite Reihe.

Kaninchen A. Erhält 5 subkutane Injektionen aggressiven Exsudates in wachsenden Dosen von 3—6 ccm, zwischen denen immer ein Zwischenraum von 4 Tagen liegt. 5 Tage nach der letzten Injektion wird ein Tropfen Nikotin injiziert. Das Tier zeigt nach und nach das Bild der Intoxikation und stirbt nach 10 Stunden.



Kaninchen B. Erhält 5 Injektionen aggressiven Exsudates in derselben Art und Weise wie das vorhergehende Kaninchen. 4 Tage nach der letzten Injektion erhält das Tier $^3/_4$ Tropfen Nikotin. Es zeigt Zittern, Unruhe, Hyperästhesie und leichte Kontrakturen der Extremitäten; alsdann erholt es sich und wird gesund.

Kaninchen C. Der Versuch wird wie beim Kaninchen B wiederholt, und man erhält dasselbe Resultat.

Kaninchen D. Derselbe Versuch wird wiederholt. Das Kaninchen stirbt nach 28 Stunden.

Dritte Reihe.

Das Blutserum der immunisierten Kaninchen diente (wie in der zweiten Reihe) zu den Versuchen dieser dritten und der folgenden vierten Reihe.

Kaninchen a. Es wird eine subkutane Injektion von 10 ccm Serum gemacht und nach 24 Stunden werden ebenfalls sukutan $^3/_4$ Tropfen Nikotin injiziert. Der Tod tritt nach 16 Stunden ein.

Kaninchen b. 24 Stunden nach einer subkutanen Injektion von 10 ccm Serum injiziert man $^3/_4$ Tropfen Nikotin. Das Tier zeigt anfangs die Erscheinungen einer Intoxikation, aldann werden dieselben aber schwächer und das Kaninchen wird gesund.

Kaninchen c. Die vorhergehenden Versuche werden wiederholt. Das Tier stirbt 12 Stunden nach der Injektion von $^3/_4$ Tropfen Nikotin.

Kaninchen d. Der vorhergehende Versuch wird noch einmal wiederholt. Das Kaninchen stirbt nach 20 Stunden.

Vierte Reihe.

Kaninchen A″. Erhält 12 ccm Blutserum des immunisierten Kaninchens wie in der zweiten Reihe und 24 Stunden später eine Injektion von 4 ccm aggressiven Exsudates. Nach einer Viertelstunde injiziert man $^3/_4$ Tropfen Nikotin. Das Tier stirbt nach 10 Minuten.

Kaninchen B″. Der vorhergehende Versuch wird wiederholt. Nur anstatt $^3/_4$ Tropfen injiziert man $^1/_2$ Tropfen Nikotin. Der Tod tritt nach 2 Stunden ein.

Kaninchen C″. Man wiederholt in unveränderter Weise den vorhergehenden Versuch. Das Tier stirbt nach 36 Stunden.

Kaninchen D″. Man wiederholt den Versuch noch einmal. Das Tier stirbt 12 Stunden nach der Nikotininjektion.

* * *

Und nun wollen wir kurz die Folgerungen zusammenfassen, die sich aus den angeführten Resultaten ergeben.

In der ersten Untersuchungsreihe sollte versucht werden, das sogenannte zum Nikotin gehörige Aggressin deutlich nachzuweisen. Vergleicht man die Erscheinungen bei den Kontrolltieren (Kaninchen g, h, i) und bei denjenigen Tieren (a, b, d, e, f), welche zuvor das vermutlich aggressive Exsudat erhalten hatten, so müssen wir nach unserer gegenwärtigen Vorstellung von dem Wesen der Aggressine sagen, daß das Exsudat in der Tat aggressive Eigenschaften besaß, da es Nikotindosen, die an und für sich keine so starke Wirkung entfaltet hätten, in höherem Grade toxisch werden oder sogar tödlich wirken ließ.

Die einzige Ausnahme haben wir beim Kaninchen c gehabt, bei welchem das Exsudat die toxische Wirkung des Nikotins verzögerte, anstatt dieselbe zu befördern und zu verstärken. Während sonst nämlich, wie wir aus zahlreichen Versuchen entnehmen konnten, $^3/_4$ Tropfen pro 1 kg Körpergewicht im Maximum innerhalb von 8 Stunden den Tod des Tieres herbeiführten, trat in diesem Falle der Tod erst nach 12 Stunden ein. Das Ergebnis dieses einen Versuches darf den Wert der zahlreichen anderen Untersuchungen nicht beeinträchtigen, sondern muß unserer Meinung nach den Beobachtungen Hokes, die er bei seinem Diplokokkenaggressin gemacht hat, an die Seite gestellt werden; dasselbe schwächte nämlich ausnahmsweise die Wirkung des Diplococcus ab,

anstatt sie zu befördern. Dieser Nebeneinanderstellung, die uns so passend erschien, wollen wir nicht zu viel Bedeutung beilegen, sondern wir wollen uns nicht verhehlen, daß diese Uebereinstimmung im Verhalten unseres Exsudates und des aggressiven Exsudates bakteriellen Ursprunges eine sehr sonderbare und bemerkenswerte Erscheinung ist.

Unsere Beobachtungen über die erste Gruppe unserer Untersuchungen wollen wir mit dem Hinweise auf den Versuch am Kaninchen l schließen, welcher zeigen soll, daß das Exsudat ebenfalls eine Eigenschaft besitzt, die man von den Aggressinen bakteriellen Ursprungs verlangt, d. h. das Exsudat war selbst bei Injektion großer Dosen unschädlich, was durch andere, von uns nicht ausgeführte Untersuchungen kontrolliert worden war.

Nachdem so die aggressiven Eigenschaften des Nikotinexsudats klargestellt worden waren, gingen wir zum Studium der eventuellen immunisierenden Wirkung des Exsudates selbst über, das den Tieren zunächst in kleinen und dann in steigenden Dosen injiziert wurde. Die zweite Versuchsreihe beweist uns, daß Tiere, die in der oben erwähnten Weise behandelt sind, der Nikotinintoxikation gegenüber einen größeren Widerstand leisten, als die Kontrolltiere, so daß es ihnen sogar manchmal gelingt, sich gegen die kleinste tötliche Dosis des Alkaloids zu schützen. Wir können also sagen, daß man mit dem Exsudat, das wir verwandt haben, beim Kaninchen eine aktive Immunität gegen das Nikotin erzielen kann.

Auf die Frage, ob das Blutserum der mit dem Exsudat behandelten Tiere eine schützende Wirkung gegenüber dem Alkaloid hätte oder nicht, soll die dritte Versuchsreihe Antwort geben. Dieselbe besagt, daß es deutlich eine schützende Wirkung besitzt, indessen nicht in dem Grade, daß es die Tiere gegen die kleinste tödliche Dosis schützt; denn die auf diese Weise passiv immunisierten Kaninchen zeigen gegenüber der Nikotinintoxikation eine sicherlich größere Widerstandsfähigkeit als die Kontrolltiere, meistens handelt es sich aber nur um eine beträchtliche Verzögerung im Eintreten des Todes bei den Tieren, und nur selten sind sie dauernd gegen die tödliche Dosis resistent.

Wir haben außerdem noch untersuchen wollen, ob das Serum der immunisierten Tiere auch antiaggressive Eigenschaften besaß, d. h. ob es gelang, ein Kaninchen zu schützen, dem man das aggressive Exsudat und eine so große Dose Nikotin injizierte, die gewöhnlich mit Hilfe des Exsudates tödlich wirkte. Das diesbezügliche Resultat (vierte Reihe) ist etwas unsicher. Es ließ sich zwar bei dem Tiere eine geringe Verzögerung im Eintreten des Todes nachweisen, aber es gelang niemals, das Kaninchen am Leben zu erhalten; ich möchte daher bei der Behauptung irgendwelcher Tatsachen in dieser Hinsicht vorsichtig sein.

* * *

Nachdem ich so die für das Nikotin erhaltenen Resultate bekannt gemacht habe, werde ich summarisch die Schlußfolgerungen anführen, zu denen Berri und Belgrano beim Cocain und Morphin gekommen sind. Bei diesen beiden Alkaloiden gelang der deutliche Nachweis der aggressiven Wirkung des entsprechenden Exsudates, das man nach der von mir beim Abrin und Nikotin angewandten Methode gewonnen hatte.

Sowohl mit dem Cocain — als auch mit dem Morphinexsudate konnte man das Kaninchen gegen das entsprechende Alkaloid immunisieren, und auch das Blutserum der immunisierten Tiere zeigte seinerseits eine mehr oder minder deutliche Schutzwirkung gegenüber dem einen oder dem anderen der beiden Alkaloide; denn Tiere, die mit dem

entsprechenden Immunserum behandelt waren, leisteten den nacheinander injizierten kleinsten tödlichen Dosen größeren Widerstand als die Kontrolltiere.

Was die antiaggressiven Eigenschaften anbelangt, so zeigte das Serum des gegen Cocain immunisierten Kaninchens dieselben entweder gar nicht oder nur in sehr geringem Maße; deutlicher dagegen traten dieselben im Serum des gegen Morphin immunisierten Tieres zu Tage.

* * *

Bevor wir zu einigen Betrachtungen allgemeiner Natur übergehen, wollen wir wenige Worte über einige Untersuchungen sagen, die zwecks Kontrolle und Vermeidung einiger Einwürfe, die unserer Meinung nach eventuell gemacht werden könnten, angestellt worden sind.

Ich habe schon in der vorläufigen Mitteilung auf eine Hypothese hingewiesen, welche von vornherein anscheinend die von dem Exsudat ausgeübte Wirkung erklären würde, eine Wirkung, die ich als aggressiv angenommen habe. Man könnte nämlich glauben, daß ein großer Teil der angewandten toxischen Substanz in dem Pleuraexsudat verbliebe, und daß daher die stärker ausgesprochenen toxischen Erscheinungen, die bei den mit dem Exsudat und der Substanz behandelten Tieren beobachtet sind, einfach auf die Summation der im Exsudat zurückgebliebenen und der subkutan infizierten Substanz zurückzuführen wären.

Nun habe ich schon bei Gelegenheit meiner ersten Untersuchungen hervorgehoben, daß, wenn diese Ansicht richtig wäre, auch das Ricinexsudat bei gleichzeitiger subkutaner Injektion mit dem Ricin den Tod der Tiere gegenüber den nur mit dem Ricin behandelten Kontrolltieren hätte beschleunigen müssen, da sich auch in diesem Falle dieselbe Summationserscheinung hätte bemerkbar machen müssen. Indessen war dies absolut nicht der Fall, so daß ich den Gedanken, ein zu dem Ricin gehöriges Aggressin klar nachzuweisen, aufgeben mußte.

Aber gegen dieselbe Annahme sprechen auch noch andere Tatsachen von großer Bedeutung. Berri hat nämlich beim Morphin die angenommene Summationserscheinung durch eine einfache und sehr klare mathematische Berechnung ausgeschlossen; er vergleicht nämlich die sowohl zur Aggressingewinnung als auch zur Tötung des Tieres angewandten Morphindosen miteinander und überlegt dann, daß selbst bei der Annahme, alles (!) Morphin sei in dem Pleuraexsudat zurückgeblieben, die Summation des injizierten Exsudates selbst und der dem Tiere nach und nach beigebrachten Morphindose nicht genügt haben würde, um den Tod des Tieres so rasch herbeizuführen, wie es in Wirklichkeit geschah. Also konnte die Erscheinung beim Morphin nicht auf einen einfachen Summationsvorgang zurückgeführt werden!

In einem für diesen selben Einwurf ungünstigen Sinne sprechen auch die vollkommene Unschädlichkeit des von uns aggressiv genannten Exsudates selbst bei Injektion hoher Dosen und auch die schon von mir bei dem Kaninchen c in der ersten Versuchsreihe hervorgehobene Tatsache, da in diesem Falle die präventive Injektion des Exsudates den Tod des Kaninchens verzögerte, anstatt ihn zu beschleunigen, was doch deutlich gegen die Annahme der sogenannten Summation spricht.

Andererseits habe ich mich auf direktem chemischen Wege von der Anwesenheit des Alkaloids in dem Exsudat überzeugen wollen. Ich habe zu diesem Zwecke die empfindlichsten und feinsten bei gerichtlichmedizinischen Untersuchungen gebräuchlichen Methoden angewandt und das Alkaloid sowohl in dem oberen Teile des zentrifugierten Exsudates

als auch in dem Sediment nachzuweisen gesucht. Hierbei habe ich nur äußerst selten in dem Exsudat ganz geringe Spuren der gesuchten Substanz gefunden, während meistenteils die Reaktion negativ ausfiel. Man mußte also hieraus schließen, daß die gesamte oder beinahe die gesamte Menge des Alkaloids absorbiert worden war, vorausgesetzt, daß dasselbe nicht derartige Veränderungen erlitten hatte, wodurch es sich selbst mit den feinsten Untersuchungsmethoden nicht mehr nachweisen ließ. Jedenfalls scheinen mir einerseits direkte und indirekte Beobachtungen biologischer Natur und andererseits Beobachtungen chemischer Natur klar und deutlich zu beweisen, daß wir sicherlich nicht eine einfache Summationserscheinung vor uns haben.

Ein anderer Einwurf, der mir allerdings nicht von großer Bedeutung zu sein scheint, ist der, daß es sich zwar um eine biologische, aber allgemeine und nicht spezifische Erscheinung handelt. Das Aleuronatexsudat würde nämlich schon an und für sich eine beschleunigende oder mäßigende Wirkung auf eine bestimmte Intoxikation ausüben, und zwar je nach den Versuchsbedingungen.

Was die beschleunigende Wirkung anbetrifft, so glaube ich nicht, daß jemand sie vorbringen kann, da bekanntlich die Leukocytenextrakte eine Intoxikation höchstens verzögern, aber niemals beschleunigen oder befördern können.

Als ich dann successive und periodische Injektionen von Aleuronatexsudat vornahm, erhielt ich nur ein einziges Mal, vielleicht zufällig, bei dem Tiere eine Verzögerung sowohl im Auftreten der Nikotinerscheinungen als auch im Eintreten des Todes.

Ich will noch rasch auf andere Untersuchungen hinweisen, welche von mir lediglich zu Kontrollzwecken angestellt worden sind. Ich habe mir nämlich die Frage vorgelegt, wie sich wohl das Aleuronatexsudat verhalten würde, wenn man es in vitro 12 Stunden lang mit einer derartigen Alkaloiddose in Berührung ließe, die der maximalen von uns zur Gewinnung des aggressiven Exsudates in die Pleura injizierten Alkaloidmenge entspräche.

Das Exsudat wurde nach einem derartigen Kontakt zentrifugiert, und es wurden mit ihm alle die (chemischen und biologischen) Untersuchungen angestellt, die man mit dem von mir aggressiv genannten Exsudat vorzunehmen pflegte.

Ich will kurz bemerken, daß das Exsudat nach dem Kontakt und der Zentrifugierung in chemischer Beziehung die Reaktion des untersuchten Alkaloids gab. Injizierte man es dann einem Kaninchen in den üblichen Dosen von 6—7 ccm pro Kilogramm Körpergewicht, so rief es deutliche Intoxikationserscheinungen hervor, während das aggressive Exsudat sich als absolut unschädlich gezeigt hatte. Injizierte man andererseits das in Rede stehende Exsudat etwas früher als die toxische Substanz und berechnete man die Alkaloidmenge, die so im ganzen (mit Exsudat und darauffolgender Injektion) dem Tiere einverleibt worden war, so beobachtete man nichts, was an eine sogenannte aggressive, von dem Exsudat entfaltete Eigenschaft denken lassen könnte. Dies genügte, um sowohl die chemische als auch die biologische Differenz zwischen dem einfachen Kontakt in vitro und dem Kontakt in vivo deutlich zu machen; offenbar mußte es sich bei der Produktion der sogenannten aggressiven Substanz um eine vitale Erscheinung handeln.

* * *

Besaß andererseits die von mir zuerst mit dem Abrin und dem mit verschiedenen Alkaloiden erzeugte Substanz, deren wichtigste und fundamentale Eigenschaften denen der wahren bakteriellen Aggressine ähnlich zu sein scheinen, noch andere Charaktere, welche eine noch stärkere Annäherung an diese Aggressine zuließen?

Jüngst hat Barlocco in der Klinik zu Genua das Verhalten des Diplokokkenaggressins gegenüber der Temperatur untersucht und ist dabei zu dem Ergebnis gekommen, daß eine Erwärmung auf 55—58° C schon derartige Veränderungen in dem Diplokokkenaggressin herbeiführt, daß seine aggressive Wirkung konstant um eine gewisse Zeit verzögert wird. Erhöht man die Temperatur auf 70° und läßt man sie eine halbe Stunde lang einwirken, so wird dadurch in der Mehrzahl der Fälle jede aggressive Wirksamkeit der Flüssigkeit aufgehoben.

Ich wollte nun sehen, ob die von mir untersuchten Exsudate, bei denen ich schon aggressive Eigenschaften nachgewiesen hatte, ein gleiches Verhalten zeigten. Von acht nach dieser Richtung hin angestellten Versuchen gaben mir nur zwei ein den Barloccoschen Experimenten analoges Resultat, d. h. hielt man die Exsudate eine halbe Stunde lang bei 70°, so verloren sie fast vollkommen ihre aggressiven Eigenschaften. Der Ausgang des Versuches war also ziemlich unsicher und konnte als negativ angesehen werden. Unter diesem Gesichtspunkte differierten daher unsere sogenannten Aggressine von den wahren (bakteriellen) Aggressinen.

* * *

Ziehe ich Schlußfolgerungen, so glaube ich als erster die Möglichkeit gezeigt zu haben, daß sich durch besondere Methoden und Anordnungen mittels Protein (Abrin) und Alkaloiden (Nikotin, Morphin, Cocain) eine Substanz erzeugen läßt, deren wichtigste Eigenschaft darin besteht, die Wirkung der entsprechenden angewandten toxischen Substanz zu befördern und zu vervielfachen.

Ueber das innerste eigentliche Wesen der nachgewiesenen Substanz läßt sich noch nichts Bestimmtes aussagen. Da aber ihre hauptsächliche, kurz vorher angegebene Eigenschaft vollkommen mit der der bakteriellen Aggressine verglichen werden kann, deren wahre Natur ebenfalls bis jetzt noch nicht recht bestimmt ist, so glaube ich nicht fehlzugehen, wenn ich diese deutlich nachgewiesene Substanz einzig und allein aus Analogiegründen „Aggressin chemischen Ursprungs" nenne.

Wenn die innerste Natur dieser sogenannten Aggressine chemischen Ursprungs jedoch auch noch im Dunkel liegt, so muß man doch annehmen, daß beim Mechanismus ihrer Produktion im wesentlichen biochemische, vitale Vorgänge eine Rolle spielen.

Es kommt mir darauf an, ein Faktum, wie ich glaube als erster, ins Licht gerückt zu haben, mag auch in Zukunft seine Erklärung, die jetzt noch sicher dunkel ist, ausfallen, wie sie wolle.

Die Bedeutung des Faktums selbst ist insofern gestiegen, als ich von jenen Körpern, die ich als zu Proteinen oder Alkaloiden gehörige Aggressine bezeichne, ausgegangen bin, um die Tiere gegen die entsprechenden toxischen Substanzen zu immunisieren.

Es mag hier genügen, an die zahlreichen Versuche zu erinnern, die zur Immunisierung von Tieren gegen nicht bakterielle Gifte und Alkaloide in besonderer Weise unternommen sind, und an die Mißerfolge, die ein großer Teil dieser Experimente gehabt hat. Ich glaube also, daß die

vorliegenden Untersuchungen, wenn auch in geringem Maße, ähnliche Studien anregen werden, welche eine so große praktische Bedeutung haben, da sie einen neuen Weg angeben, den man vielleicht mit Nutzen verfolgen und sogar in der menschlichen Pathologie einschlagen kann.

Genua, November 1907.

Nachdruck verboten.

Kritische Bemerkungen zu den „Agglutinations- und Komplementablenkungsversuchen mit Typhusimmunsera“ von J. J. van Loghem.

Von Dr. **Philipp Eisenberg,** Assistenten am k. k. hygienischen Institut der Jagellon. Universität in Krakau.

Da die in der Ueberschrift genannte Arbeit (diese Zeitschrift Bd. XLV. Heft 6, p. 539—550) Probleme behandelt, mit denen ich mich seit langer Zeit befaßt habe und ich mit dem Ausbau meiner Ektoplasma-Hypothese beschäftigt, wohl kaum in nächster Zeit Gelegenheit finden dürfte, mich mit der Agglutinationsfrage literarisch abzugeben, erlaube ich mir hier, ganz kurz einige kritische Bedenken vorzubringen, die die Lektüre der genannten Arbeit in mir erweckt hat.

Zunächst sei bemerkt, daß die Literatur über Agglutinationshemmung in frischen Seris Herrn L. nur ungenügend bekannt zu sein scheint, indem er es unterläßt, die Arbeiten von de Blasi und de Berardinis, Cerrito, Sahli, Stern, Libman, Schottelius, Moser und Pirquet, Żeleński, Fischer, Jogichess, Schwoner, de Blasi (Boll. Soc. Lancis. 1906) zu nennen und ihre Ergebnisse zu berücksichtigen. Auch meine Arbeit über diesen Gegenstand, die wohl an H. Loghem zugänglicher Stelle erschienen ist (diese Zeitschrift. Bd. XLI. Heft 3. p. 360—364) und die sowohl die vollständige Literatur als auch eine eingehende experimentelle und kritische Bearbeitung der Frage enthält, scheint von H. van Loghem übersehen worden zu sein.

Nun aber zur Sache selbst! Aus der schon vorher von Volk und de Waele, Falta und Noeggerath sowie von mir festgestellten Thermolabilität der Hemmungsfunktion frischer Sera glaubt L. die Komplementnatur des daran beteiligten Hemmungskörpers ableiten zu dürfen, ein Vorgehen, das kaum allgemeine Zustimmung finden dürfte. Thermolabilität und Reaktivierungsfähigkeit sind ja nicht die einzigen und nicht einmal die wichtigsten Merkmale der Komplemente, und man wird wohl kaum fermentative Funktionen des Serum's einzig daraufhin als Komplementwirkungen ansprechen. Derartige Analogisierungen sind überhaupt nur berechtigt, wenn sie zur Auffindung neuer Tatsachen verhelfen, sonst aber eher dazu angetan, falsche Schlüsse und Verwechslungen zu zeitigen. Auch die Tatsache, daß Ficker-Bacillen keine Hemmung aufweisen und zugleich unfähig sind, Komplement zu binden, dürfte wohl kaum ein Argument für diese Anschauung abgeben, da es wohl denkbar ist, daß die Zubereitungsweise des Diagnostikums verschiedene Rezeptorenarten schädigt, also sowohl diejenigen für Proagglutinoide wie auch die, welche Komplement verankern. In meiner oben angeführten Arbeit sind zahlreiche Belege dafür angeführt, wie Formol-

zusatz und Erhitzung von Bakterienaufschwemmungen, welche wahrscheinlich beide beim Diagnostikum in Betracht kommen, das Verhalten der agglutinierbaren Substanz beeinflussen können (p. 832—835). Unzulässig erscheint mir auch der Beweis der Komplementnatur des Hemmungskörpers, den van Loghem darin findet, daß „es vom seitenkettentheoretischen Standpunkte nicht denkbar ist“, daß die Hemmung auf Immunkörper zurückzuführen wäre. Der Seitenkettentheorie alle Ehre — aber ich glaube nicht, daß man nach der Uebereinstimmung oder Nichtübereinstimmung mit ihr die Stichhaltigkeit von Annahmen beurteilen darf — nur die Wirklichkeit, d. h. experimentelle Tatsachen, sind dazu berufen, einen derartigen Prüfstein unseres Denkens abzugeben, nicht aber Theorieen, und mögen sie noch so geistreich und allumfassend sein. Sodann ist es auffallend, daß Herr van Loghem, der auf die Seitenkettentheorie zu schwören scheint, die Annahme einer Hemmung durch Komplemente so warm befürwortet, die doch in dem Rahmen der Ehrlichschen Theorie keinen Platz findet. Endlich sei darauf hingewiesen, daß Falta und Noeggerath sowie ich eine andere Deutung der Hemmung durch frische Sera und ihrer Thermolabilität gegeben haben, die auf der Annahme thermolabiler Proagglutinoide basiert und von Herrn L. hätte berücksichtigt werden sollen.

Im § 5 seiner Untersuchungen stellt Herr van Loghem fest, daß erhitzte Sera, die mit lebenden Bacillen Hemmungen aufweisen, das Diagnostikum mehr oder weniger vollkommen agglutinieren, und zieht daraus den Schluß, daß „die Annahme einer labilen fällenden und einer stabilen bindenden Gruppe im Bau der Agglutinine nicht berechtigt ist“ (p. 550). Die Tatsache bietet prinzipiell nichts Neues, nachdem von Lipschütz, Dreyer und Jex. Blake sowie von mir gezeigt worden ist, daß bei Verwendung desselben Stammes erhitzte Sera mit Bouillonkulturen keine oder nur geringe Hemmung geben, mit Agaraufschwemmungen dagegen sehr deutliche (p. 656, 658, 752—754), und ich habe es versucht, diese Tatsache damit zu erklären, daß in beiden Medien die Verteilung der Bakterienrezeptoren eine verschiedene ist. Gegen die Stichhaltigkeit der Folgerungen von van Loghem möchte ich hier nur noch einige Sätze aus meiner schon vielfach zitierten Arbeit wiedergeben: „Ueberhaupt ist es eine falsche Auffassung der Sache, wenn man glaubt, die Proagglutinoidtheorie schließe einen Einfluß der Bakterien auf den Hemmungsprozeß aus. In der Arbeit von Eisenberg und Volk sowie in meiner eigenen ist nachgewiesen worden, daß der Einfluß der Menge der agglutinierbaren (resp. präzipitablen) Substanz direkt ein Postulat dieser Theorie sein muß, und es wurden sowohl dort als in der vorliegenden Arbeit zahlreiche Beweise dafür geliefert. Sodann habe ich auch wahrscheinlich gemacht, daß nicht nur die Menge der agglutinierbaren Substanz, sondern auch ihre Verteilung in der betreffenden Kultur oder Aufschwemmung für den Hemmungseffekt nicht irrelevant ist. Wenn wir das alles berücksichtigen, so kommen wir zu dem Schluß, daß die Tatsache, daß an den Bakterien vor sich gehende Veränderungen die Hemmungszone beeinflussen, der Proagglutinoidtheorie durchaus nicht zuwiderläuft“ (p. 755). Wenn endlich van Loghem als Ergebnis seiner Untersuchungen drei verschiedene Arten von Hemmungskörpern aufstellt, so glaube ich nicht, daß damit der Klarstellung der ohnehin verwickelten Verhältnisse und der Oekonomie des Denkens gedient ist. Die Proagglutinoidtheorie bietet hier wenigstens den Vorteil der Einheitlichkeit der Auffassung, der wohl nicht zu unterschätzen ist.

Bezüglich der Technik der Untersuchungen von van Loghem

möchte ich noch bemerken, daß erstens nirgends bemerkt wird, ob bei vergleichenden Untersuchungen mit lebenden Bakterien und dem Diagnostikum dieselbe Konzentration der agglutinierbaren Substanz zur Reaktion kam, ein Punkt, der für den Ausfall der Versuche von entscheidender Bedeutung sein kann. Sodann aber glaube ich, daß bei Anstellung von Hemmungsversuchen, speziell wenn es sich um Ausbleiben der Hemmung handelt, man sich absolut mit der Verdünnung 1 : 25 als oberer Grenze nicht begnügen darf, da möglicherweise die Hemmung in der Verdünnung 1 : 2—1 : 10 auftreten könnte, was die Schlußfolgerung jedenfalls beeinflussen würde.

Aus alledem glaube ich den Schluß ziehen zu dürfen, daß, so interessant die von Herrn van Loghem mitgeteilten Tatsachen an sich sind, die darauf basierten theoretischen Schlüsse mit einiger Reserve zu behandeln sein dürften.

Zakopane, am 4. Januar 1908.

Sur un nouveau mode de produire chez l'homme tuberculeux la réaction de la peau à l'aide de la tuberculine.

Par le Professeur **J. Lignières,**
Directeur de l'Institut National de Bactériologie du Ministère de l'Agriculture, Buenos-Aires.

Grâce à la très importante découverte de v. Pirquet, nous savons que, en mettant un peu de tuberculine sur des scarifications récentes et superficielles de la peau, on produit chez les tuberculeux une réaction plus ou moins intense au niveau des scarifications, tandis que la cicatrisation se fait d'une manière absolument normale quand il s'agit d'organismes libres de bacilles de Koch: c'est la dermo-réaction de v. Pirquet ou dermo-tuberculinisation.

Peu après, Wolff-Eisner et Calmette démontrèrent qu'il existe aussi une réaction locale spécifique quand on fait agir la tuberculine sur la conjonctive, c'est l'ophthalmo-réaction de Wolff-Eisner, Calmette, ou oculo-tuberculinisation.

Dans une note du 18 septembre 1907, j'ai fait connaître que la peau des tuberculeux récemment rasée, sans aucune scarification, et simplement frottée avec quelques gouttes de tuberculine brute, donne une réaction spécifique des plus caractéristiques.

J'ai proposé de réserver la dénomination de dermo-réaction à l'opération de v. Pirquet parcequ'elle intéresse directement le derme et de reserver celle de cuti-réaction ou de cuti-tuberculinisation à celle que j'ai indiqué.

La dermo- et la cuti-réaction ne provoquent aucune perturbation thermique ou générale sur les malades; elles peuvent se répéter avec succès presque sans limites et à très courts intervalles.

Rien n'est plus facile que d'amalgamer la dermo- et la cuti-réaction; il suffit de frotter la peau avec la tuberculine sur toute la superficie scarifiée, au lieu de déposer simplement un peu de tuberculine sur les incisions superficielles; c'est là un excellent procédé.

Chez les bovins tuberculeux, les frictions de tuberculine sur la peau bien rasée déterminent après 24—48 heures une réaction inflammatoire



spécifique d'une intensité variable: depuis la simple rougeur, jusqu'à la tuméfaction œdémateuse avec ou sans éruption vésiculeuse qui se termine par la formation de croûtes.

Sur le lapin et surtout le cobaye tuberculeux, la réaction de la peau se produit facilement dans les mêmes conditions mais surtout sous la forme œdémateuse; on peut ainsi faire parfois un diagnostic précoce sans nécessité de sacrifier les animaux d'expériences.

Chez l'homme ma cuti-réaction peut rendre aussi d'excellents services; je me propose de m'y arrêter quelque peu dans la présente note.

Technique de la cuti-réaction.

A la face interne du bras, au niveau des biceps, on applique le savon avec un blaireau ordinaire sur une superficie de vingt centimètres carrés environ; ensuite, avec un rasoir mécanique préalablement bien affilé, on rase la peau délicatement et en tous sens. Le rasoir mécanique a l'avantage de ne pas effrayer les malades comme il peut arriver avec le rasoir commun à lame libre; de plus, il écarte tout danger de coupure accidentelle ce qui est très appréciable surtout chez les très jeunes enfants dont les mouvements brusques peuvent fort bien surprendre l'opérateur.

Après avoir enlevé avec de l'eau propre l'excès de savon, puis séché la surface rasée à l'aide d'une serviette ou mieux, d'un tampon de coton, il ne reste plus qu'à y déposer 5 à 6 grosses gouttes de tuberculine brute, c'est-à-dire non diluée, avec lesquelles on frictionne la région. (J'employe de préférence une tuberculine brute plus concentrée que celle qu'on trouve d'ordinaire dans le commerce.)

Pour faciliter l'absorption, on doit tendre la peau avec la main gauche, tandis que la droite pratique la friction à l'aide d'un doigt de caoutchouc ou d'un petit tampon de coton maintenu à l'extrémité d'une pince Péan.

Il suffit de frictionner une ou deux minutes[1]); on laisse ensuite sécher, l'opération est terminée sans que le patient ait souffert la moindre douleur.

Chez les petits enfants la peau est très fine de sorte qu'on peut pratiquer la friction n'importe sur quelle partie du bras, mais toujours après avoir préalablement rasé, si l'on veut augmenter notablement les conditions de succès.

On peut aussi faciliter l'absorption de la tuberculine en frictionnant préalablement la surface rasée avec l'alcool ou le xylol; la peau rougit et lorsqu'elle est bien sèche on applique la tuberculine pour faire la friction.

Résultats de l'opération.

Chez les sujets indemnes de tuberculose, la peau frottée avec la tuberculine reste tout à fait normale: On n'y voit ni rougeur, ni infiltration, ni éruption. Lorsque la peau est particulièrement délicate, le rasoir et surtout l'action mécanique de la friction, peuvent déterminer une petite irritation superficielle qui ne peut être confondue avec une réaction positive.

Chez les individus tuberculeux il y a une réaction véritablement spécifique qui se manifeste à des degrés et sous des formes variables. Elle est essentiellement éruptive et apparaît en général dès la vingt-

1) C'est grâce à la friction que la tuberculine est facilement absorbée par la peau rasée; elle a donc une très grande importance. Souvent on produit une légère mousse à la fin de la friction; c'est un signe qu'elle est suffisante.

quatrième heure. Quelquefois, elle ne se présente qu'après 48 heures et dans des cas exceptionnels plus tard encore.

A la superficie de la peau rasée et frictionnée apparaissent des papules plus ou moins nombreuses, d'une teinte qui varie du rose très pâle mêlé de jaune ou de gris, jusqu'au rouge foncé et même jusqu'au violacé.

A la base de ces papules on peut noter une auréole de la même teinte.

Les papules sont dans quelques cas si nombreuses qu'elles arrivent à se confondre ainsi que leurs auréoles pour former des îlots confluents plus ou moins étendus ou même une véritable plaque œdémateuse et rouge d'aspect exémateux.

L'éruption peut s'arrêter au stade de simple papule qui disparaît après 4 ou 5 jours sans presque laisser de traces si ce n'est qu'au toucher. Si la réaction est plus intense, l'éruption arrive jusqu'au stade de vésicule et plus rarement de vésicopustule avec formation de vraies croûtes. Cependant, celles-ci se rencontrent rarement chez l'homme tandis qu'elles sont assez fréquentes sur les bovins.

Les petites vésicules à centre blanc jaunâtre s'observent durant plusieurs jours puis se fanent peu à peu pour disparaître en un temps variable, jamais moindre d'une semaine.

Après leur disparition, elles laissent une pigmentation rouge ou brunâtre de la peau qui persiste des semaines. Cette pigmentation est en rapport avec l'intensité de l'éruption. En même temps que cette pigmentation, on voit souvent se former des pellicules épidermiques blanches à la surface et autour des papules; ces pellicules qui parfois prennent l'aspect de croûtes squameuses peuvent affecter la forme de petites couronnes épidermiques.

Durant l'évolution de l'éruption, le sujet ressent comme pour la vaccination Jennerienne, une sensation de démangeaison, en général peu intense. Jamais ainsi que je l'ai dit au début, on n'observe ni fièvre ni phénomènes généraux.

Différents degrés de la réaction.

Pour faciliter les descriptions, je reconnais trois degrés de la cuti-réaction.

Dans le premier, les papules isolées ne dépassent pas le nombre de dix.

Dans le second degré, il y a plus de dix papules et quelques-unes peuvent être confluentes.

Enfin, le troisième degré est caractérisé par la confluence des papules qui forment une plaque sur tout ou partie de la superficie frottée avec la tuberculine.

En dehors de ces trois degrés, il faut tenir en compte l'intensité de l'éruption. En effet, on observe que dans chacun de ces trois degrés la réaction inflammatoire de la peau peut être faible, moyenne ou violente. Il sera intéressant d'étudier si ces différentes modalités de l'éruption ont une signification surtout au point de vue du pronostic.

En général et notamment chez les adultes, la cuti-réaction a dès les premières vingt-quatre heures le degré et l'intensité qui vont la caractériser.

Il y a cependant à cette règle beaucoup d'exceptions. On observe en effet, particulièrement chez les jeunes enfants, des cuti-réactions qui au début sont du premier degré et qui passent après plusieurs jours au second degré et même jusqu'au troisième.

Chez les jeunes sujets on constate quelquefois deux ou plusieurs poussées éruptives successives, de manière qu'on peut rencontrer à la fois sur la même cuti-réaction, une pigmentation de la peau laissée par d'anciennes papules plus ou moins disparues, couvertes ou non de pellicules épidermiques, avec des papules et des vésico-pustules récentes.

Ces cuti-réactions par poussées durent plus longtemps que celles dont l'éruption se fait en un seul temps.

Quand l'éruption du premier ou du second degré est de faible intensité, les papules perdent rapidement leur teinte rosée; elles sont alors plus difficiles à voir, mais on les sent très bien en passant dessus la pulpe des doigts.

Grâce à l'obligeance de M. le Docteur José Penna, Directeur de l'Assistance publique de Buenos-Aires, et de M. le Docteur Maximo Castro, médecin de l'hôpital des enfants, j'ai pu avec la collaboration de mes amis les Docteurs Leopoldo Uriarte et Mariano R. Castex, appliquer la cuti-réaction à un nombre assez élevé de sujets des deux sexes et de tous âges atteints de formes variées de tuberculose ou indemnes de bacilles de Koch. Les résultats seront consignés dans des publications ultérieures.

Sensibilité comparée de l'ophthalmo-, de la dermo- et cuti-réaction chez l'homme.

L'ophthalmo-réaction est sûrement la plus sensible de ces trois réactions; cependant, elle n'est pas absolue; en quelques cas très rares, des tuberculeux ne réactionnent pas, mais ce sont en général, des cachectiques qui sont arrivés au terme de leur maladie[1]).

La fidélité de la dermo- et de la cuti-réaction peuvent être regardées comme à peu près égale pourvu qu'on fasse des scarifications assez grandes et assez nombreuses.

La cuti-dermo-réaction, c'est-à-dire l'emploi simultané des scarifications et des frictions, est peutêtre plus fidèle encore que l'une ou l'autre de ces réactions séparées.

Les tuberculeux cachectiques réactionnent avec beaucoup moins de fréquence à la cuti- et à la dermo-réaction que les malades encore en bon état; cependant, dans ce cas spécial, la dermo-réaction paraît avoir une légère supériorité sur la cuti.

Si on repète l'opération plusieurs fois chez les cachectiques, on peut parfois provoquer une réaction positive alors que la première n'avait pas donné de résultat.

En résumé, l'ophthalmo-réaction reste le procédé de diagnostic le plus sensible. La dermo- et la cuti-réaction peuvent être tenues comme également constantes sauf dans le cas de cachexie tuberculeuse où le diagnostic clinique est heureusement assez facile à faire.

J'attache plus d'importance à la réaction positive de la cuti-réaction, plutôt qu'à celle de la réaction oculaire. Pour moi, il ne peut y avoir aucun doute dans le diagnostic tuberculose si la cuti-réaction est positive, tandis qu'il est des cas assez fréquents de réaction oculaire douteuses, dans lesquels il est difficile de se prononcer catégoriquement.

Dans la pratique courante et comme je vois l'expliquer un peu plus loin, la cuti-réaction me paraît être le mode de diagnostic qui doit être tout d'abord employé.

1) Chez les animaux tuberculeux, même non cachectiques, on peut observer aussi quelquefois des défaillances de la tuberculine employée; soit en injections sous-cutanées, soit sous la forme de l'ophthalmo-, de la cuti- et de la dermo-réaction.

Si le cas est négatif, on complète le diagnostic par l'ophthalmo-réaction.

Quelques avantages de la cuti-réaction.

La cuti-réaction est non seulement d'une application extrêmement facile, mais encore nullement douloureuse; de sorte que tous les malades l'acceptent facilement, quels que soient leur catégorie sociale, leur sexe et leur âge.

Il n'y a pas le plus petit danger d'infection spontanée, puisque la peau n'est pas ouverte.

Quand la réaction est positive, même si les papules sont rares, elle est tellement caractéristique qu'il ne peut y avoir aucun doute pour les débutants. La réaction cutanée a une valeur absolue.

Dans la pratique de la clientèle, il me paraît y avoir quelques avantages à faire le diagnostic précoce de la tuberculose en employant tout d'abord la cuti-réaction. Si celleci est positive, le diagnostic est certain, s'il est négatif, il y a présomption que le sujet n'est pas tuberculeux; on doit alors et comme contrôle pratiquer l'ophthalmo-réaction.

En agissant ainsi on évite aux malades des réactions oculaires parfois un peu trop fortes et inutiles. La cuti-réaction est particulièrement exacte et notable chez les enfants; je n'ai jamais rencontré le plus léger inconvénient à l'employer, tandis qu'ils acceptent plus difficilement la dermo-réaction de lecture parfois douteuse. Quant à l'ophthalmo-réaction chez les jeunes sujets, elle peut produire ou réveiller dans quelque cas rares il est vrai, des lésions oculaires assez durables et désagréables.

Ein einfaches Verfahren zur Züchtung und Isolierung anaërober Keime.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut der Universität Halle a. S. (Dir.: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. C. Fraenkel).]

Von Dr. **H. Liefmann,**

Privatdozenten der Hygiene, I. Assistenten des Institutes.

Mit 3 Figuren.

An Methoden zur Züchtung und Isolierung anaërober Bakterien ist heutzutage kaum mehr Mangel. Dennoch wird ein jeder, der nur gelegentlich eine Züchtung anaërober Keime auszuführen hat, es als einen Nachteil empfinden, wenn er — wie das zumeist der Fall sein wird — mit gewöhnlich im Laboratorium nicht in Gebrauch stehenden Apparaten und Reagentien zu arbeiten sich gezwungen sieht. In die gleiche Lage gerät derjenige, der außerhalb seines Laboratoriums auf Reisen, bei Sektionen plötzlich, wider Erwarten, veranlaßt wird, auf anaërobe Keime zu fahnden.

Die bisher im Laboratorium meist angewendeten Methoden erfordern alle ein mehr oder minder großes Instrumentarium. Am einfachsten sind natürlich diejenigen zu handhaben, die nur eine Züchtung, nicht aber auch eine Isolierung der Keime bezwecken. Aber diese Verfahren führen bei der Untersuchung von Krankenmaterial nur in den seltensten Fällen zum Erfolg, da man es zumeist nicht mit Reinkulturen des anaëroben Erregers zu tun hat. Ein allgemein brauch-

bares Verfahren kann daher nur dasjenige sein, das eine Isolierung der einzelnen Kolonieen ermöglicht, also eine Aussäung des Materials in Petri-Schalen, zur Not auch auf schräg erstarrtem Agar. Diese Forderung beschränkt sofort die Zahl der anwendbaren Methoden erheblich, doch bleibt noch eine ganze Reihe von Verfahren übrig, die unseren Absichten entsprechen.

Man kann bekanntlich die den Anaëroben schädliche hohe Sauerstoffspannung auf dreierlei Weise beseitigen, indem man:

1) Eine Verdünnung der Luft herstellt, und im Vakuum züchtet;
2) die Luft durch ein anderes, indifferentes Gas ersetzt;
3) den Luftsauerstoff auf chemischem (oder biologischem) Wege absorbiert.

Die beiden ersten Verfahren gestalten sich aber dadurch kompliziert und oft unausführbar, daß die Apparate zur Herstellung eines Vakuums, also Luft oder Wasserstrahlpumpe, und ebenso die zur Erzeugung eines indifferenten Gases, wie z. B. des Wasserstoffs, nicht immer und überall verfügbar sind. Dazu kommt, daß außer diesen Hilfsmitteln bei der Herstellung von Plattenkulturen noch ein zweckmäßiger Apparat zur Aufnahme der von der Luft abgeschlossenen Platten gehört, z. B. eine der von Botkin oder von Hesse angegebenen Glocken. Am einfachsten erweist sich meines Erachtens die Anwendung des 3. Prinzips, durch chemische Mittel eine Absorption des Sauerstoffes zu erzielen. Man hat dies Verfahren zur Züchtung der Keime auf Agarplatten sowohl wie auf schräg erstarrtem Nährboden in der verschiedensten Art und Weise angewandt. Ich erinnere hier an die Methoden von Buchner (1) für schräge Agarkulturen, die von Klein (2), Slupsky (3) und das von Hammerl (4) für Platten. Sie alle erfordern aber noch das Vorhandensein gewisser Regentien, wie der Pyrogallussäure, der Kalilauge und ein luftdicht abschließbares Gefäß, das eine ziemlich erhebliche Größe haben muß, wenn es sich zur Aufnahme mehrerer Platten eignen soll.

Können wir unser Instrumentarium zur Züchtung anaërober Keime nicht noch weiter vereinfachen?

In dem letzten Jahre habe ich mit einer kleinen Modifikation einer bereits früher versuchten Methode recht gute Resultate erzielt, die ich hier mitteilen möchte, weil das dabei benötigte Instrumentarium ein denkbar einfaches ist.

Vor einiger Zeit war im Anschluß an Versuche von Tarozzi (5) von mehreren Seiten darauf hingewiesen worden, daß ein Zusatz geringer Mengen eines pflanzlichen oder tierischen Gewebes zu gewöhnlichen Nährmedien, z. B. Bouillon, eingesäten anaëroben Keimen das Wachstum scheinbar auch bei Luftzutritt erlaubt. Einige Autoren haben angenommen, daß der begünstigende Einfluß von Gewebsteilen auf irgend einen besonderen Stoff in den Geweben zurückzuführen sei, der es den Anaëroben ermögliche, bei Anwesenheit von Sauerstoff zu wachsen. Harras (6) hat sich bemüht, diesen Gedanken praktisch zu verwerten, und eine einfache Methode zu gewinnen, indem er dem in Petri-Schalen ausgegossenen Nährboden Zusätze von Gewebsteilchen hinzufügte. Aber diese Bemühungen sind erfolglos geblieben, und zwar aus einem leicht verständlichen Grunde. Experimente, die ich anstellte (7), machten es in hohem Grade wahrscheinlich, daß der begünstigende Einfluß des Gewebes nur darin seinen Grund hat, daß es begierig Sauerstoff zu absorbieren vermag, so daß das aërobe Wachstum der Anaërobier nur eine Täuschung darstellt, weil nur dort eine

Entwickelung der Keime stattfindet, wo das Gewebe den Sauerstoff an sich reißt, und so anaërobe Verhältnisse schafft.

In den gewöhnlichen, nicht hermetisch verschlossenen Petri-Schalen ist die Oberfläche des Nährbodens viel zu groß, als daß der Gewebszusatz es vermöchte, den ganzen zudringenden Sauerstoff dauernd zu binden. Man kann sich leicht davon überzeugen, indem man eine Agarplatte gießt, bei der man den Agar mit Methylenblau gefärbt, und ihn dann durch irgend ein Reduktionsmittel, z. B. Pryogallol, wieder entfärbt hat. (Bekanntlich wird Methylenblau durch Reduktionsmittel in eine farblose Leukoverbindung übergeführt, nimmt aber die ursprüngliche blaue Farbe wieder an, sobald es sich reoxydieren kann.) Wenn man die so behandelte Schale bedeckt einige Zeit stehen läßt, so sieht man, wie die blaue Farbe allmählich wiederkehrt, ein Zeichen, daß die reduzierende Wirkung des Pryogallols erschöpft ist. Ganz ebenso verhält es sich bei Gewebszusätzen[1]. Nach diesen Versuchen mußte als einziges Mittel, auch in Platten ein Wachstum anaërober Keime zu erzielen, nur eine teilweise oder völlige Fernhaltung des Luftsauerstoffs übrigbleiben. Ich versuchte mit verschiedenen Mitteln einen undurchlässigen Ueberzug über den Platten mit Hilfe von erstarrenden Medien zu erzielen, kam aber damit zu keinem befriedigenden Ergebnis. So griff ich auf eine Methode zurück, die schon vor langer Zeit zum ersten Male zu ähnlichen Zwecken von Robert Koch verwendet worden ist, nämlich die Bedeckung der Plattenoberfläche mit einer dünnen Glimmerscheibe.

Koch (8) hat dieses Verfahren angewandt, um das Sauerstoffverlangen der Vibrionen der asiatischen Cholera zu demonstrieren. Dann hat Liborius (9) sich des gleichen Prinzips bedient, ohne jedoch günstige Resultate zu erzielen. Später wurde es wieder von Sanfelice (10) empfohlen, der von ausgezeichneten Resultaten sprach. Freilich verwendete dieser Verfasser eine kleine Modifikation des ursprünglichen Verfahrens, die wohl nicht bedeutungslos für den Ausfall seiner Versuche gewesen ist. Koch und Liborius hatten die früher in der Bakteriologie üblichen Glasplatten verwendet, die mit der geimpften Gelatine übergossen wurden; nach dem Erstarren wurde auf die Oberfläche des Nährbodens eine Glimmerplatte gelegt, und etwaige Luftblasen durch vorsichtigen Druck entfernt. Es wurde auf diese Weise wohl der Zutritt des Sauerstoffs von oben, aber nicht der von der Seite ausgeschaltet, und die Verbesserung Sanfelices bestand nun darin, daß er statt der Glimmerscheiben Glasplatten verwandte, und um das zwischen den beiden Platten befindliche Nährsubstrat ringsherum neue Gelatine goß, der er ein wenig von einem Antiseptikum zugesetzt hatte. Durch diese Maßnahmen sind seine guten Resultate wohl bedingt gewesen. Schließlich sind hier die Versuche Trenkmanns (11) zu nennen, dessen Verfahren sich dem gleich zu beschreibenden dadurch sehr nähert, daß er zum Nährboden ein Reduktionsmittel (er verwandte Natriumsulfid) fügte. Er bediente sich zur Aufnahme des Nährbodens nicht der Kochschen Platten, sondern in wenig zweckmäßiger Weise zweier Uhrschalen.

Bei meinen Versuchen verwandte ich natürlich die jetzt gebräuchlichen Petri-Schalen, bei denen das seitliche Hinzutreten von Sauerstoff der Luft durch den Glasrand der Schale unmöglich gemacht wird.

1) In Röhrchen, in denen der Nährboden nur eine geringe Oberfläche, aber eine erhebliche Tiefe besitzt, vollzieht sich der Reoxydationsprozeß viel langsamer; ja die tiefen Schichten bleiben auch nach Wochen noch reduziert, also entfärbt.



Ich bedeckte einen möglichst großen Teil der Oberfläche des Nährbodens mit einem dünnen durchsichtigen Glimmerplättchen.

Dennoch waren meine Ergebnisse durchweg negativ, wenn ich gewöhnlichen Agar verwandte. Diejenigen Platten aber, die einen Zusatz von reduzierenden Stoffen erhalten hatten, ergaben einen sehr befriedigenden Erfolg. Ich habe sowohl Pyrogallol und ameisensaures Natron, von anorganischen Stoffen Ferroammonsulfat, wie auch Gewebsteilchen zugesetzt, und erzielte nach 2 Tagen ein deutliches Wachstum der Anaërobier in getrennten Kolonieen.

Zu meiner Ueberraschung lieferte aber auch der gewöhnliche Traubenzuckeragar ein gutes Resultat; und auf diese Weise wurde die Züchtung der Anaërobier so einfach, daß ich beschloß, diese Methode in größerem Maßstabe zu prüfen. Sowohl bei Bac. botulinus, wie bei Tetanus-, Rauschbrand- und malignen Oedembakterien gelang die Züchtung, aber auch die Isolierung der Keime ohne Schwierigkeit, wenn ich den gewöhnlichen, freilich gut ausgekochten Traubenzuckeragar verwandte, oder frisch hergestellte Traubenzuckerlösung zu gewöhnlichem Agar fügte. Nur einige wenige Vorsichtsmaßregeln waren dabei zu beachten. Man mußte Wert legen auf ein möglichst sorgfältiges Anliegen der Glimmerplatte auf der Agaroberfläche, und die sich fangenden Luftblasen durch gelinden Druck zum Entweichen nach außen veranlassen. Dann erwiesen sich möglichst große, runde, nicht zu dicke, sondern ziemlich feine und sich gut anschmiegende Glimmerplatten von Vorteil, die natürlich keine Risse oder Sprünge haben durften, durch die die Luft hätte durchdringen können.

Ich versuchte auch den praktisch vorkommenden Verhältnissen dadurch möglichst zu entsprechen, daß ich anaërobe Bakterien Gemischen anderer Keime zusetzte, und die ersteren mittels dieses Plattenverfahrens wieder zu isolieren versuchte. Das gelang ohne Schwierigkeit, doch zeigte sich dabei noch ein Mißstand, dessen Beseitigung erwünscht war. Die aëroben Keime nämlich verbreiteten sich oft sehr schnell längs des Randes der aufgelegten Glimmerscheibe und erschwerten es nach Abnahme derselben, die darunter liegenden Kolonieen ohne Verunreinigung abzuimpfen. Um dies zu vermeiden, begoß ich den Rand, der mit einer sterilen Pinzette sorgfältigen aufgelegten Scheibe mit einigen wenigen Kubikcentimetern flüssigen Traubenzuckeragars[1]) und vermied so mit Sicherheit den genannten Mißstand. Hat man es mit Reinkulturen zu tun, so ist diese Ueberschichtung natürlich unnötig.

Die guten Resultate, die ich mit Traubenzuckeragar erhielt, erheischten die Beantwortung der Frage, ob die das Wachstum begünstigende Wirkung des Traubenzuckers auf seinen reduzierenden Eigenschaften oder auf anderen Einflüssen beruhe. Man weiß, daß der Traubenzucker in gewissen Konzentrationen das Wachstum der Anaërobier begünstigt. Ist das Kohlehydrat für diese Keime ein besonders zusagender, weil leicht vergärbarer Nährboden, oder vermag er in den mit Glimmerscheiben bedeckten Agarplatten Reduktionserscheinungen zu bewirken? Ich konnte nachweisen, daß Traubenzuckeragar, den ich mit einigen Tropfen Methylenblau versetzt und mit einer Glimmerscheibe bedeckt hatte, nach etwa 2 Tagen in der Mitte eine deutliche Entfärbung des Methylenblaus aufwies. Eine genau in der gleichen Weise mit gewöhn-

1) Man kann bei dieser Ueberschichtung auch ein wenig von einem Antiseptikum zusetzen, um das Wachstum oberflächlicher Verunreinigungen zu vermeiden.



lichem Agar vorbereitete Platte zeigte davon keine Spur. Das bewies einerseits, daß dem Traubenzuckeragar reduzierende Eigenschaften innewohnen, und andererseits, daß die Glimmerscheibe einen vollkommenen Luftabschluß, wenigstens in ihren zentralen Partieen, gewährleistet. Diese letztere Tatsache wurde dadurch noch mehr gesichert, daß die entfärbte Mitte der Platte auch nach Wochen noch ihre blaue Farbe nicht wiedererlangt hatte.

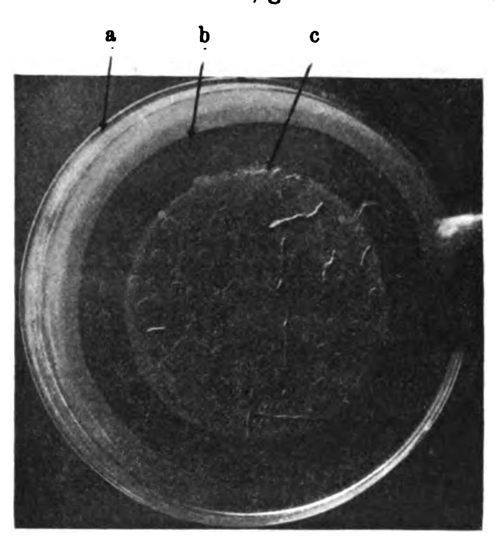


Fig. 1. Anaërobiose (dichtes Wachstum).
a Rand der Glasschale, b Rand der Glimmerplatte,
c entwickelte Kolonieen des Bac. tetani.

Ich hatte bereits erwähnt, daß ich mich mit der geschilderten Methode zur Züchtung verschiedener anaërober Keime, wie des Bac. botulinus, des Tetanus-, Rauschbrand- und malignen Oedembacillus mit Erfolg bedient habe. Einige Resultate mit Tetanusbacillen geben die Photographieen 1 und 2 wieder (*a* bezeichnet den Rand der Glasschale, *b* den der Glimmerplatte, *c* die gewachsenen Kolonieen, die etwa 1 cm innerhalb des Glimmerplättchenrandes sich zu entwickeln pflegen und meist einige Gasblasen erzeugen). Es gelingt leicht nach vorsichtigem Abheben des Glimmers jede einzelne Kolonie rein abzuimpfen.

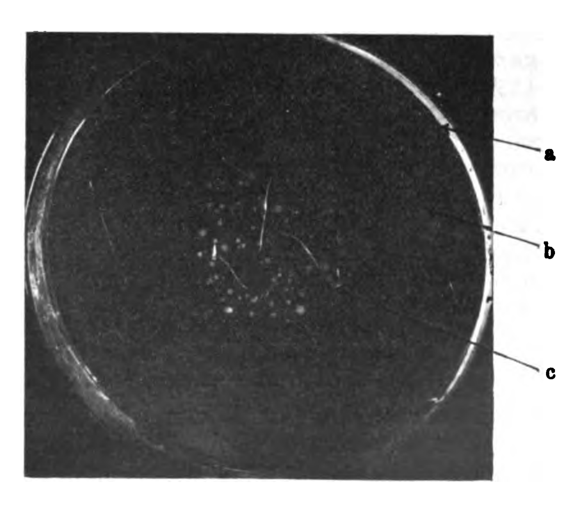


Fig. 2. Anaërobiose (isolierte Kolonieen).
a Rand der Glasschale, b Rand der Glimmerplatte,
c entwickelte und isolierte Kolonieen des Bac. tetani.

Ich habe weiterhin das Verfahren mit Erfolg zur Demonstration strenger Aërobiose benutzt. Ich verwandte dazu einen aus schleimiger Milch im hiesigen Institut gezüchteten Micrococcus, der nur bei Sauerstoffzutritt gedeiht. Dort, wo der Glimmer der Oberfläche des Traubenzuckeragars eng anliegt, war keine Entwickelung der Keime zu beobachten. Nur wenn sich eine kleine Luftblase zwischen Glimmerscheibe und den Traubenzuckeragar geschoben hatte, war an dieser Stelle eine Entwickelung des Micrococcus erfolgt (*a* = Rand der Glasscheibe, *b* = der der aufgelegten Glimmerscheibe, *c* = die entwickelten Kolonieen [Abbild. 3]).

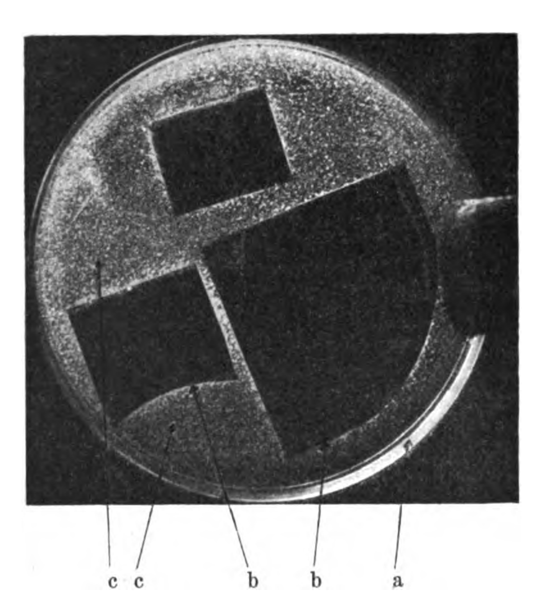


Fig. 3. Strenge Aërobiose.
a Rand der Glasschale, b Rand der Glimmerplatten, c Kolonieen des streng aëroben Micrococcus.

Ueberhaupt eignet sich das Verfahren aufs beste zur Darstellung des Verhaltens der verschiedenen Bakterien zum Sauerstoff der Luft, da das ausschließliche Wachstum außerhalb oder unterhalb des Glimmers und die Größe der Kolonieen in den beiden Bezirken ohne weiteres einen guten Maßstab für das Sauerstoffbedürfnis der Keime abgibt.

Was die Zeitdauer der Entwickelung angeht, so pflegt nach 36 Stunden die Größe der Kolonieen meist eine genügende zu sein, um mit Erfolg davon abimpfen zu können. Ich habe auch gesehen, daß es nicht unbedingt notwendig ist, die Keime im Nährboden zu verteilen, sondern daß man sie auch auf der frisch gegossenen und erstarrten Platte ausstreichen und dann mit Glimmer bedecken kann. Sie gelangen auch so zur ausgiebiger Entwickelung, zeigen aber oft eine Neigung unter der Glimmerplatte, sich schnell rings zu verbreiten.

An mehreren hundert Platten habe ich Gelegenheit gehabt, das Verfahren zu prüfen und darauf zu achten, in welcher Weise man die besten Resultate erzielt. Es empfiehlt sich, von dem Ausgangsmaterial mehrere Verdünnungen anzulegen und in das erste Röhrchen eine nicht zu geringe Menge einzutragen, da ja nur ein Teil des ganzen ausgegossenen Nährbodens eine Entwickelung der Keime zeigt. Im übrigen sind eine Reihe von Punkten zu beobachten, die ich zum Teil schon kurz besprochen habe, die ich aber noch einmal kurz zusammenfassen möchte.

1) Man koche den Traubenzuckeragar vor Gebrauch tüchtig (10 Minuten lang) aus, kühle schnell auf 45° ab und beimpfe ihn dann.

2) Das Auflegen der Glimmerplatten geschieht am besten sofort nach dem Erstarren, doch kann man die Platten meist auch ohne Schaden kurze Zeit (10 Minuten) bei 37° im Brutschrank trocknen. Es ist das aber nicht ganz so sicher und auch unnötig. Man verwende ziemlich dünne, biegsame, sich gut anschmiegende Glimmerplatten, die man durch Erhitzen über der Bunsenflamme leicht sterilisiert. Nach Gebrauch sterilisiere man sie erst wieder, wenn sie ordentlich abgewaschen worden sind, weil sie sonst leicht braun und undurchsichtig werden[1]). Man verwende runde Platten, so groß, daß zwischen Glasrand und Glimmer etwa $^1/_2$ cm breites Stück Nährboden freibleibt. (Nimmt man

1) Man kauft am besten recht dicke Glimmerscheiben, aus denen man sich selbst durch mehrfaches Spalten die gewünschte Stärke zurechtmacht. Die Scheibe darf keinerlei Risse haben.

die Glimmerscheibe größer, so legt sie sich nicht ordentlich an.) Wichtig ist ein gutes Auflegen der Scheibe, wozu ein wenig Uebung gehört. Man beseitige alle größeren Luftblasen durch vorsichtigen Druck mit steriler Pinzette.

3) Will man eine etwaige Ausbreitung von Keimen um den Rand des Glimmers herum vermeiden, so empfiehlt es sich nach Auflegen, desselben den Rand ringsherum mit einer kleinen Schicht Agars zu übergießen.

Das Verfahren kann auch je nach den Umständen mehr oder weniger modifiziert werden.

Es führt zum Ziel, auch wenn ich den Traubenzuckeragar durch gewöhnlichen Agar ersetze, wenn ich nur für einen Zusatz irgendwelcher reduzierender Substanzen sorge. Natriumsulfid, Pyrogallol, ameisensaures Natron, Ferroammonsulfat sind ebenso geeignet wie frische oder kurze Zeit auf 100° erhitzte feine Gewebsteilchen aus irgendwelchen Organen.

Auch an den Gebrauch von Glimmerscheiben ist man nicht streng gebunden, man kann sie durch dünne Glas- oder Celluloidplatten ersetzen, die freilich für längere Benutzung Nachteile besitzen. Zur Not kann man sich auch 2 Objektträger mit Wachs oder Siegellack zusammenkitten, und so mit in jedem Laboratorium stets vorhandenem Material die Anaërobenkultur ermöglichen.

Ich möchte schließlich noch erwähnen, daß die beschriebene Methode sich trefflich eignet, das hämolytische Vermögen mancher anaërober Keime auf der Blutagarplatte zu demonstrieren. Ich habe z. B. mit Bac. tetani sehr hübsche Resultate erhalten. Um die Kolonieen hatten sich, wie bei anderen hämolytischen Bakterien, deutlich helle Höfe gebildet. Auch auf manchen anderen Spezialnährböden kann man mit Hilfe von Glimmerscheiben und irgend einem Reduktionsmittel die Anaëroben zur Entwickelung bringen und die Art ihres Wachstums wie auf jedem anderen Nährboden verfolgen. So habe ich mit dem von v. Drigalski und Conradi angegebenen Milchzuckeragar schon nach 24 Stunden gute Resultate erhalten und kann diesen Nährboden zur Anaërobenzüchtung nur empfehlen. Der Milchzucker besitzt offenbar gleich gute Reduktionseigenschaften wie die Dextrose und die feste Konsistenz dieses Spezialagars, der ja in den meisten Laboratorien in ständigem Gebrauch ist, erschwert anscheinend das Eindringen des Sauerstoffs der Luft in erheblichem Maße.

Literatur.

1) Buchner, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888.
2) Klein, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV. 1898.
3) Slupsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901.
4) Hammerl, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901.
5) Tarozzi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 619.
6) Harras, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 46. p. 2237.
7) Liefmann, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 17.
8) Koch, Berl. klin. Wochenschr. 1884. p. 80.
9) Liborius, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. I.
10) Sanfelice, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XIV. p. 339.
11) Trenkmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIII. p. 1089.

Berichtigung.

In Heft 2. p. 158. Zeile 22 u. 23 von oben ist zu lesen: für das Tuberkulin besitzen statt für die Tuberkulose besitzen.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLVI. Heft 5.

Beiträge zur Typhusepidemiologie.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Privatdozent Dr. **Robert Scheller.**

Auf dem Gebiete der Typhusforschung sind in den letzten Jahren große Fortschritte zu verzeichnen. Diese Fortschritte sind einzig und allein durch zwei Faktoren ermöglicht worden, erstens durch die Vervollkommnung der Methodik für den Typhusbacillennachweis, zweitens durch die Errichtung der Untersuchungsämter. Wenn es durch die neueren Nährböden erst eigentlich möglich geworden ist, den Typhusbacillennachweis mit größerer Sicherheit zu führen, als bis dahin, so haben andererseits erst die Untersuchungsämter es vermocht, die einzelnen Epidemieen in toto genau bakteriologisch zu verfolgen und die Infektionsquellen sowie den ganzen Infektionsmodus näher zu studieren.

Mit das wichtigste Resultat dieser Forschungen ist das Auffinden gesunder Typhusbacillenträger gewesen. v. Drigalski, Dönitz sowie Lentz fanden, angeregt von Frosch, zuerst, daß nicht nur die Typhuskranken, sondern auch die Typhusrekonvaleszenten sowie die vom Typhus Genesenen in einer großen Zahl von Fällen Typhusbacillen ausscheiden. Von besonderer Bedeutung sind die Arbeiten von Conradi, Kayser, Kossel, Nieter, die zum Gegenstand ihrer Untersuchungen die gesunden Typhusbacillenträger sowie ihre Bedeutung für die Epidemiologie machen.

Untersuchungen von Kayser haben ergeben, daß ca. 3 Proz. der Typhuskranken noch nach 1 Jahre Typhusbacillen ausscheiden, während Frosch und Lentz sogar in 5 Proz. der Fälle diesen Befund erheben konnten.

Von Arbeiten, die sich mit der Infektiosität der Typhusbacillenträger beschäftigen, möchte ich zunächst die Arbeit Kossels erwähnen. Kossel fand, daß zahlreiche Typhusfälle, die in zwei Städten aufgetreten waren, auf eine Infektion durch Milch zurückzuführen waren. Diese Milch war durch einen Typhusbacillendauerausscheider beim Melken infiziert worden. Nach Entfernung des betreffenden Melkers aus dem Milchbetriebe hörten die Typhuserkrankungen auf. Als aber dennoch trotz des Verbots der betreffende Bacillenträger das Melkgeschäft wieder aufnahm, trat neuerlich eine Typhuserkrankung auf. Noch deutlicher spricht eine Beobachtung von Soper für die Infektiosität der Typhusbacillenträger. Soper fand, daß eine Köchin, welche bei 8 Familien hintereinander beschäftigt war, bei 7 Familien im ganzen 26 Typhuserkrankungen hervorrief. Sie war Typhusbacillendauerträgerin. Wann sie Typhus überstanden hatte, ließ sich nicht feststellen. Jedoch sprach alles dafür, daß die Infektion bereits vor sehr langer Zeit verlaufen war.

Wenn auch diese und andere Beobachtungen unzweifelhaft für die Infektiosität der Bacillenträger sprechen, so sind doch manche Stimmen laut geworden, die den Typhusbacillenträgern keine so große Gefährlichkeit beimessen und es für unnötig halten, die Bekämpfungsmaßregeln gegen diese Infektionsquelle mit großer Schärfe durchzuführen. Dieser

Umstand veranlaßt mich, in Folgendem einiges über Typhusbacillenträger sowie über ihre Bedeutung für die Epidemiologie nach meinen Erfahrungen mitzuteilen.

Was zunächst die bakteriologische Diagnose der Typhusbacillenträger anlangt, so gestaltet sie sich im allgemeinen viel leichter als die der Typhuskranken. Denn während in vielen Fällen der Typhuskranke nur verhältnismäßig spärlich Typhusbacillen ausscheidet, finden wir bei den Typhusrekonvaleszenten und bei den Typhusbacillenträgern in der Regel sowohl im Stuhl als auch im Harn Typhusbacillen in großer Zahl. Im Harn finden wir sie in einer überaus großen Zahl der Fälle in Reinkultur oder wenigstens so zahlreich, daß die Kolonieen der anderen Mikroorganismen auf den Platten neben den Typhusbacillen in verschwindend kleiner Zahl vorhanden sind. Auch wenn sich die Typhusbacillen im Stuhl der Bacillenträger finden, kann es häufig vorkommen, daß ihre Zahl so groß ist, daß man nach dem Plattenbefund zur Ansicht kommen könnte, die Coli-Bacillen seien von den Typhusbacillen verdrängt worden. Ob dieses tatsächlich der Fall ist, darüber möchte ich vorläufig kein Urteil fällen. Jedenfalls aber kommt es namentlich bei den Dauerausscheidern vor, daß man auf den Platten oft nur auf 1000 und mehr Typhuskolonieen eine Coli-Kolonie beobachtet. Jedoch nicht immer liegen die Verhältnisse für die Diagnose so einfach. Hier und da kommen die Typhusbacillen nur sehr spärlich zur Beobachtung und manchmal kann es deshalb dazu kommen, daß man, obzwar die betreffende Person noch Bacillenträger ist, Typhusbacillen nicht nachweisen kann. Ich kann von Rekonvaleszenten berichten, bei denen wir durch Wochen hindurch Typhusbacillen nicht beobachten konnten und welche deshalb von der Medizinalbehörde als typhusbacillenfrei erklärt wurden: aber nach längerer Zeit, oft erst nach 2 Jahren, wurde dann infolge von Erkrankung in der Familie oder der Umgebung der Betreffenden unsere Aufmerksamkeit auf jene Personen gelenkt und wir konnten dann bei einer nunmehr von neuem vorgenommenen bakteriologischen Untersuchung diese Personen als Typhusbacillenträger sicherstellen. Solche Fälle lassen es wohl ratsam erscheinen, die Nachuntersuchung bei Typhus mit besonderer Sorgfalt durch längere Zeit hindurch fortzusetzen, damit man nicht einen Bacillenträger übersieht. Vielleicht ließe sich mit Erfolg folgender Modus obligatorisch einführen: Wenn 3 Nachuntersuchungen — die Intervalle sollten je 1 Woche betragen — negativ ausgefallen sind, wird der betreffende Rekonvaleszent vorläufig als typhusbacillenfrei erklärt und darf provisorisch seine Tätigkeit wieder aufnehmen; nach weiteren 2 Monaten müßte dann eine erneute bakteriologische Untersuchung das Vorhandensein oder Fehlen von Typhusbacillen feststellen, worauf dann im Falle eines negativen Befundes definitiv die Beobachtungs- und Isolierungsmaßregeln aufgehoben werden. Ich glaube, daß durch Einführung dieses Untersuchungsganges wohl mit größerer Sicherheit als bisher sämtliche Typhusbacillenträger eruiert werden könnten.

Ich möchte noch betonen, daß, was zwar selbstverständlich erscheint, aber dennoch leider von vielen Aerzten nicht gehandhabt wird, zum Zwecke der Typhusnachuntersuchungen stets sowohl Stuhl als auch Harn eingesandt werden sollen; denn die Untersuchung nur eines von beiden genügt nicht, um mit Sicherheit eine negative Diagnose zu stellen.

Ich will nun in Folgendem über eine Beobachtung sprechen, die ich in etlichen Fällen an den Typhusbacillen bei den Nachuntersuchungen

anstellen konnte. Zunächst möchte ich als Beispiel zwei Einzelfälle aus meinen Protokollen herausgreifen, um sie hier an die Spitze meiner diesbezüglichen Betrachtungen zu setzen:

I. M. Carl war von Juni bis August 1906 an Typhus erkrankt. Am 25. April 1907 wird, da der Verdacht besteht, daß er Typhusbacillenträger ist, dem Untersuchungsamt eine Stuhlprobe eingesandt. Auf den Endo-Platten finden sich zahlreiche typhusverdächtige Kolonieen, die sich auch bei schwacher Vergrößerung weder voneinander noch von Typhuskolonieen unterscheiden. Das übliche Verfahren der Probeagglutination mit einem Serum (Titer 8000) in den Verdünnungen 1 : 100, 1 : 200 und 1 : 500 ergibt bei einer Reihe dieser Kolonieen negative Resultate, während bei vielen anderen Kolonieen die Agglutination prompt eintritt. Von beiden Reihen wurden auf gewöhnlichem Agar Reinkulturen angelegt.

Die durch die Probeagglutination nicht agglutinierten Bacillen erwiesen sich morphologisch und biologisch als Typhusbacillen, die aber von dem Serum, dessen Titer 8000 war, nur sehr langsam und zwar nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 6000 agglutiniert wurden. Die anderen Kulturen erwiesen sich ebenfalls als typische Typhusbacillen, die aber von demselben Serum schnellstens bis zu einer Verdünnung von 1 : 25 000 agglutiniert wurden.

II. Z. Carl erkrankt am 27. April 1907 an Typhus. Bei der ersten Untersuchung am 1. Mai 1907 finden wir typhusverdächtige Kolonieen, die aber mit dem Probeagglutinationsverfahren ein negatives Resultat ergaben. Die Reinkultur dieser Bacillen ergibt typische Typhusbacillen, die schwer agglutiniert werden, und zwar von einem Serum mit dem Titer 8000 nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 5120.

25. Juli 1907. Stuhlplatten ergeben zweierlei Reihen von Typhusbacillenkolonieen, die beide bei der Probeagglutination prompt reagieren.

a) Die Reinkulturen der ersten Reihe werden von dem Serum (Titer 8000) entsprechend dem Titer des Serums bis 1 : 8000 agglutiniert.

b) Die Reinkulturen der zweiten Reihe werden von demselben Serum bis 1 : 100 000 agglutiniert.

10. Oktober 1907. Im Stuhle finden sich nur Typhusbacillen, die vom Serum (Titer 8000) bis 1 : 100 000 agglutiniert werden.

Diese Beispiele zeigen mit Deutlichkeit, daß nicht nur bei manchen Typhusfällen Typhusbacillen ausgeschieden werden, die sich in der Agglutinabilität anders verhalten als die meisten anderen Typhusstämme es demselben Serum gegenüber tun, sondern daß auch bei ein und demselben Individuum verschiedene Typhusbacillenrassen gefunden werden können, die sich betreffs der Agglutinabilität voneinander unterscheiden. Ferner sehen wir, daß die von einem und demselben Typhusbacillenträger ausgeschiedenen Typhusbacillen im Laufe der Zeit sich, was wenigstens die Agglutinabilität anlangt, wesentlich ändern können. Wir haben es hier wohl unzweifelhaft mit der Bildung neuer Rassen aus einem einzigen Stamm zu tun, die im Organismus vor sich geht. Worauf diese Veränderungen zurückzuführen sind, wissen wir nicht. Ob und wie weit man aus diesen Befunden analoge Schlüsse auf die Veränderlichkeit der Virulenz für den Menschen ziehen darf, möchte ich dahingestellt sein lassen. Jedenfalls aber glaube ich auf Grund der eben erwähnten sowie vieler anderer Untersuchungen darauf hinweisen zu dürfen, daß man, wie bereits vielfach in der Literatur erwähnt ist, im Falle, daß die Probeagglutination scheinbar negativ ausfällt, daraus

keineswegs auf die Nichttyphusnatur der Kolonieen schließen darf, sondern daß man dann in solchen Fällen stets behufs genauerer Untersuchung und Feststellung des Agglutinationstiters Reinkulturen anlegen muß.

Es sei mir nun gestattet, die Stellung der Typhusbacillenträger in der Typhusepidemiologie des näheren an der Hand von Beispielen zu beleuchten. Wie leicht man bei der Typhusbekämpfung auf falsche Wege geraten kann, wenn man auf die Bacillenträger nicht achtet, konnte ich bei meinen epidemiologischen Untersuchungen wiederholt feststellen. In einer großen Zahl von Typhusepidemieen wurde seitens der betreffenden Aerzte vielfach das Brunnenwasser als Infektionsquelle beschuldigt. Es wurden die verdächtigen Brunnen gesperrt, gründlich desinfiziert; manchmal mit verhältnismäßig großem Kostenaufwande neue Brunnen gebohrt, ohne daß die lokalisierte Typhusepidemie dadurch nur um das geringste eingedämmt worden wäre. Oft erfuhren wir erst spät, nachdem die Epidemie schon lange bestanden hatte und nachdem alle Bekämpfungsmaßregeln, die sich auf Sperrung der Brunnen, Desinfektion der Wohnräume sowie aller Gebrauchsgegenstände erstreckten, sich als nutzlos erwiesen hatten, hiervon; wir lenkten in solchen Fällen die Aufmerksamkeit der Aerzte auf die Möglichkeit des Vorhandenseins gesunder Bacillenträger und fanden dann vielfach, oft durch komplizierte epidemiologische Nachforschungen unsere Ansicht bestätigt. In solchen Fällen konnten wir dann durch Ausschaltung des Bacillenträgers als Infektionsquelle die Epidemie zum Stillstand bringen.

Als erstes Beispiel für die Bedeutung der Typhusbacillenträger für die Infektion mit Typhus und zugleich als Beweis dafür, wie kompliziert die Nachforschung nach solchen Bacillenträgern oft ist, möchte ich zunächst einen Fall besprechen, den ich vor ca. 4 Jahren beobachtet und erforscht habe.

In einem Orte bei Königsberg, in welchem seit langer Zeit kein Typhus geherrscht hat, erkrankten in Zwischenräumen in einem einzigen Hause eine größere Anzahl von Personen. Der jetzt verstorbene, damalige Kreisarzt Herr Dr. Luchhau forderte mich auf, die Gründe der Epidemie festzustellen, da ihm dieses mit Sicherheit nicht gelungen war. Er hatte den Brunnen, aus welchem die Erkrankten getrunken hatten, sperren lassen, ohne daß er den Ausbruch neuer Erkrankungsfälle hätte verhindern können. Die von mir vorgenommene Lokalinspektion ergab zunächst, daß der Brunnen tatsächlich in einer äußerst schlechten Verfassung war und mit der Senkgrube in ziemlich nahem, örtlichem Zusammenhange sich befand, so daß daher für die erste Vermutung des Kreisarztes, der Brunnen sei die Ursache der Epidemie, eine genügende Berechtigung vorlag. Abgesehen davon aber, daß die Sperrung des Brunnens die Epidemie nicht zum Stillstand gebracht hatte, sprach noch ein anderer Umstand gegen die Bedeutung des Brunnens als Infektionsquelle für die Epidemie; der Brunnen wurde nämlich auch von Nachbarhäusern benutzt, ohne daß in diesen eine Typhuserkrankung vorgekommen wäre. Die Anamnese ergab keine Anhaltspunkte dafür, daß die Kranken oder Angehörigen mit Typhuskranken zu tun gehabt hatten oder in Gegenden gewesen waren, wo Typhus geherrscht hat. Schließlich, nachdem alle anderen Möglichkeiten ausgeschlossen werden mußten, blieb nur noch die Möglichkeit der Verfolgung einer, wenn auch anscheinend kein Ziel versprechenden Fährte übrig. Die Mutter des Hausstandes arbeitete als Kartoffelschälerin in einem vom Hause ca. $1^1/_2$ km weit

entfernten Fort. Wenn auch meines Wissens in diesem Fort keine Typhuserkrankung vorgekommen war, so beschloß ich doch, daselbst meine Nachforschung fortzusetzen. Die Frau schälte die Kartoffeln in einem Raume, der gleichzeitig als Schusterwerkstatt benutzt wurde. Die 3 Soldaten, die in diesem Raume arbeiteten, waren alle gesund. Es glückte mir jedoch zu erfahren, daß der eine Soldat vor ca. 6 Monaten im Manövergelände Typhus durchgemacht hatte. Durch die Güte des wachhabenden Arztes wurde ich in den Stand gesetzt, Stuhl und Harn des betreffenden Soldaten zu untersuchen und den Nachweis zu erbringen, daß der Betreffende in seinem Harn eine Reinkultur von Typhusbacillen ausschied. Eine Infektionsquelle war damit nachgewiesen. Es blieb nun noch zu erfahren, wie wohl der Weg der Uebertragung stattfand. Nachdem anfangs meine Frage, ob die Frau, die in der Schusterwerkstatt auch aß und trank, Nahrungsmittel mit nach Hause genommen hatte — wohl aus Furcht, sich einer eventuell unerlaubten Handlung schuldig zu bekennen — energisch verneint worden war, gelang es mir schließlich durch gütliches Zureden festzustellen, daß die Frau zumindest jenen Teil vom Essen, den sie nicht an Ort und Stelle verspeiste, wie z. B. kalte Kartoffeln, kaltes Gemüse, kaltes Fleisch, kalte Suppen, Milchreste, Brotreste u. dergl., nach Hause mitzunehmen pflegte, wo dann diese Reste gemeinschaftlich verspeist wurden. Da die Frau selbst sich nicht als Bacillenträgerin erwies und somit als Infektionsquelle nicht in Betracht kommt, so scheint hier wohl sicher eine Infektionsübertragung durch Nahrungsmittel von dem erwähnten Bacillenträger auf die nachträglich erkrankten Personen vorzuliegen. Damit war auch die Ursache dafür festgestellt, daß es nur in dem Hause der betreffenden Frau zu einer Epidemie gekommen war, während die Nachbarhäuser davon verschont geblieben waren. Kurz danach erkrankte überdies auch noch einer der Soldaten, mit welchem der betreffende Typhusbacillenträger zusammen gearbeitet hatte. Nachdem der betreffende Bacillenträger als Infektionsquelle unschädlich gemacht worden war, hörte das Fortschreiten der Epidemie von selbst auf.

Diese epidemiologische Studie beweist uns, wie wichtig bei der Bekämpfung des Typhus es ist, selbst dort nach Bacillenträgern zu fahnden, wo wenig Aussicht besteht, solche zu finden. Nur durch Unschädlichmachen solcher Bacillenträger kommt oft eine Epidemie, deren Bekämpfung bis dahin zu keinem Ziel geführt hat, zum Stillstande. Andererseits ist auch hier der Beweis für die Infektiosität der gesunden Typhusbacillenträger gegeben.

Wenn ich auch noch viele derartige Fälle mitteilen könnte, so möchte ich mich dennoch nur darauf beschränken, in Folgendem die Verhältnisse einer langjährigen Epidemie mitzuteilen, die ich zum Gegenstande eingehender epidemiologischer Studien gemacht habe.

In einer Domäne in der Nähe Königsbergs herrschte bis in die jüngste Zeit seit 14 Jahren Typhus. In diesen 14 Jahren sind nachweislich 32 Personen an sicherem Typhus erkrankt; während wohl die Zahl der leichten Typhuserkrankungen, die nicht zur Beobachtung kamen, auch eine erhebliche gewesen sein dürfte. Bemerkenswert ist der Umstand, daß nur Leute, die direkt in der Domäne zu tun gehabt hatten, an Typhus erkrankt waren, während in dem an die Domäne grenzenden Dorfe Typhuserkrankungen nicht zu verzeichnen waren. Da immer wieder nach oft längeren Intervallen trotz Desinfektion der Wohnräume, trotz Absperrungsmaßregeln von neuem Typhusfälle daselbst zu konstatieren

waren, so war selbstverständlich seit langem das Bestreben der Medizinalbehörde darauf gerichtet, den Typhus radikal zu bekämpfen. Die Bekämpfungsmaßregeln wurden nach verschiedenen Seiten hin eingeleitet. Der Brunnen, der als Urheber beschuldigt wurde, erwies sich jedoch nicht als Ursache der Erkrankungsfälle; ebensowenig konnte der an der Domäne vorbeifließende Bach als Infektionsquelle angesehen werden, da weder oberhalb noch unterhalb der Domäne Typhuserkrankungen zu verzeichnen waren. Der Kreisarzt, Herr Medizinalrat Forstreuter, hatte den Verdacht auf Bacillenträger und forderte mich in dankenswerter Weise zu der so interessanten Mitarbeit auf. Vor allem mußten

Tabelle I.
Typhuserkrankungen auf der Domäne Sch. von 1894—1908[1]).

No.	Patient	Zeit der Erkrankung	
1[2])	Re., Clara	1894 Juni	Starb am Typhus, eigene Kuh
2[2])	Ne., Friedrich	1896 Juli	Starb am Typhus, eigene Kuh
3[2])	Ri., Elise	1896 „	Ob eigene Kuh, läßt sich nicht mehr feststellen
4[2])	Fi., Hermann	1896 „	Eltern besaßen eigene Kuh
5[2])	Rg., Frau	1896 Okt.	Eigene Kuh
6[2])	Dvd., Frau	1897 Sept.	Eigene Kuh
7	Ka., Gustav	Okt.	Milch aus der Meierei
8	Rch., Hermann	1897	Milch aus der Meierei
9[2])	Gri., Wilhelm	1899 Okt.	Eigene Kuh
10	Schw., Friedrich	1900 Febr.	Im Hause des Pächters bespeist. Milch aus der Meierei
11	Mo., Heinrich	1900 April	Milch aus der Meierei
12	Stro., August	1900 Nov.	Knecht im Hause des Pächters bespeist. Milch aus der Meierei
13	Sei., Anton	1901 März	Russischer Arbeiter. Milch aus der Meierei
14[2])	Stro., Hermann	1901 „	Bruder von No. 12, Eltern besaßen eigene Kuh
15	Sch., Reinhold	1901 Okt.	Sohn des Domänenpächters. Milch aus der Meierei
16	Sch., Bruno	1901 „	Sohn des Domänenpächters. Milch aus der Meierei
17	Sch., Frau	1901 „	Frau des Domänenpächters. Milch aus der Meierei
18[2])	Kl., Ernestine	1901 „	Besaß eigene Kuh
19	Sch., Lisa	1902	Tochter des Domänenpächters. Milch aus der Meierei
20	Sch., Klaus	1902	Sohn des Domänenpächters. Milch aus der Meierei
21	Boy., Albert	1903 Nov.	Knecht im Hause des Pächters bespeist. Milch aus der Meierei
22	Sch., Hans	1904 Mai	Sohn des Domänenpächters. Milch aus der Meierei
23	Sch., Lotte	1904 „	Tochter des Domänenpächters. Milch aus der Meierei
24	To., Hermann	1905 Nov.	Knecht im Pächterhaus bespeist. Milch aus der Meierei
25	Schm., Friedrich	1905 Dez.	Knecht im Pächterhaus bespeist. Milch aus der Meierei
26	Aeg., Frau	1906 April	Milch aus der Meierei
27	Hü., Hermann	1906 Juni	Milch aus der Meierei
28	Kl., Frau	1906 Dez.	Wohnt und arbeitet 3 km weit entfernt in einem Vorwerk. Milch aus der Meierei
29	Ma., Knecht	1907 Okt.	Milch aus der Meierei
30	Kro., Schüler	1907 Nov.	Milch aus der Meierei
31	Bru., Bertha	1907 „	Kindermädchen im Pächterhaus (erst seit 1. Okt. 1907). Milch aus der Meierei
32	Sch., Annemarie	1907 „	Tochter des Pächters. Milch aus der Meierei

1) Es wurde nachträglich festgestellt, daß häufig auch unter den russischen Arbeitern etliche Wochen nach der Ankunft Typhus ausbrach, diese Arbeiter wurden auch im Pächterhaus bespeist.

2) Bekamen, wie festgestellt wurde, obzwar eigene Kuh vorhanden war, häufig Milch aus der Meierei.

die Erkrankungsfälle wenn möglich noch nachträglich zusammengestellt werden. Es ergab sich aus der Nachforschung betreffs der Krankheitsfälle folgendes (siehe Tabelle I):

Sicher erkrankt waren im ganzen 32 Personen. Anamnestisch konnten wir feststellen, daß von diesen 32 Fällen 8 ihre eigene Kuh hatten, 23 regelmäßig die Milch aus der Meierei der Domäne bekamen. Bei einem Fall war es nicht mehr zu eruieren, ob die betreffende Familie eine eigene Kuh besessen hat oder nicht. Eine genauere Erwägung ließ uns zu der Vermutung kommen, daß wohl eine Uebertragung durch Milch die Ursache für die Erkrankungsfälle gewesen sein dürfte. Denn wie wir feststellen konnten, beherbergt die Domäne an Angestellten und ihren Familienmitgliedern stets ca. 180 Personen. Aus der Domäne mit Milch versehen werden ständig ca. 40 Personen. Wenn auch einzelne Angestellte im Laufe der Jahre wechseln, so ist doch dieses Verhältnis stets dasselbe geblieben. Wie wir aus der Tabelle ersehen, sind von der verhältnismäßig geringen Zahl von Personen, die Milch von der Domäne bekamen, 22 Personen an Typhus erkrankt, während von der $3^1/_2$mal so großen Zahl von Personen, die ihre eigene Kuh hatten, nur 8 erkrankt sind. Wir konnten aber auch noch bezüglich dieser 8 Erkrankungsfälle feststellen, daß auch die betreffenden Familien, obwohl sie ihre eigene Kuh hatten, dennoch häufig, z. B. wenn die betreffende Kuh keine Milch gab, von der Domäne mit Milch versorgt worden sind. Da also die Zahl der Erkrankungen bei den wenigen Personen, welche ständig aus der Domäne ihre Milch bezogen, bei weitem die Zahl der Erkrankungen beim übrigen Personal überwog und überdies sich auch noch bei den Erkrankten der letzteren Kategorie ein gelegentlicher Konsum von Milch aus der Domäne nachweisen ließ, so war unsere Vermutung gerechtfertigt, daß eventuell ein Zusammenhang zwischen der Milch und den Erkrankungsfällen bestehe.

Die örtlichen Erhebungen ergaben, daß von der Milch nichts verkauft wird, daß alles, was nicht an Ort und Stelle konsumiert wird, für die Fütterung der Schweine verwandt wird. Nur Butter wird an bestimmte Kunden verkauft, bei denen indessen Typhusfälle nicht vorgekommen sind. Einerseits haben wir in der Beschränkung des Milchvertriebs einen Grund hierfür, warum für den Fall, daß die Milch tatsächlich die Infektionsstelle gewesen sein sollte, die Epidemie dennoch örtlich geblieben war; andererseits aber mußten wir für den Fall, daß die Milch typhushaltig gewesen sein sollte, annehmen, daß in der Butter die Typhusbacillen entweder geschädigt oder zerstört worden waren. Als wir unsere Nachforschungen nach der gekennzeichneten Richtung hin weiter ausdehnten und gerade das Meiereipersonal näher ins Auge faßten, so konnten wir feststellen, daß eine in der Meierei beschäftigte Frau (siehe Tabelle II) vor 17 Jahren Typhus gehabt hat.

Gleich von vornherein faßten wir den Verdacht, daß diese Frau die eigentliche Infektionsquelle sein könnte, obzwar es uns auffiel, daß die Frau, welche seit ca. 30 Jahren in der Domäne beschäftigt ist, erst 3 Jahre nach ihrer Erkrankung den ersten Typhusfall hervorgerufen haben sollte. Allein auch über diesen Punkt sollten wir glücklicherweise bald Aufklärung erlangen. Wie sich nachträglich durch die Domänenbücher feststellen ließ, kam diese Frau, welche früher auf der Domäne mit anderen Arbeiten beschäftigt worden war, erst vor 14 Jahren in den Meiereibetrieb, und zwar gerade nicht lange Zeit vor Auftreten des ersten Typhusfalles. Die bakteriologische Untersuchung zeigte, daß

Tabelle II.

Untersuchung gesunder Personen von der Domäne S.

Protokoll No. 1—40 bekommen Milch aus der Meierei.

No.	Name	vor der Bekämpfung						nach der Bekämpfung						Bemerkuugen
		2. 12. 07		12. 12. 07		24. 12. 07		15. 1. 08		30. 1. 08		15. 2. 08		
		Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	
1	Frau U.	Ty	Ty	Ty	0	Ty	0	Ty	0	Ty	0	Ty	0	63 J. alt, seit über 35 J. Domäne, vor ca. 17 J. phus, seit 14 J. in der Meie
2	Rch. sen.	0	steril	0	steril	0	steril	0	0	0	0	0	0	
3	Frau Rch.	0	steril	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	Hermann Rch.	Ty	Ty	Ty	Ty	Ty	Ty	0	0	0	0	0	0	15 J. alt, $^1/_4$ J. auf der D mäne, vor 11 J. Typhu
5	Friedrich Rch.	0	steril	0	0	0	steril	0	0	0	0	0	0	
6	Marie Ju.	Ty	0	0	0	Ty	0	0	0	0	0	0	0	17 J. alt, Stubenmädc beim Pächter, 9 Mon. Domäne, niemals Typ gehabt.
7	Anna Wssn.	0	Ty	0	0	0	Ty	0	0	0	0	0	0	23 J. alt, in der Dom $2^1/_2$ J., niemals Typhus habt.
8	August Wssn.	0	0	0	0	0	Ty	0	0	0	0	0	0	
9	Frau Wssn.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	Marie Isch.	Ty	0	Ty	steril	Ty	steril	0	0	0	0	0	0	16 J. alt, 9 J. in der D mäne, nie Typhus geh Melkerin.
11	Obermeier Rck.	Ty	0	0	0	Ty	0	0	0	0	0	0	0	44 J. alt, 16 J. in der D mäne, nie Typhus geh
12	Frau Rck.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
13	Erich Rck.	Ty	0	0	0	Ty	steril	0	0	0	0	0	0	14 J. alt, in der Domäne boren, nie Typhus geh
14	Frau Mur.	Ty	Ty	Ty	Ty	0	Ty	0	0	0	0	0	0	24 J. alt, $2^1/_4$ J. in der D mäne, nie Typhus geh Melkerin.
15	Kro.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
16	Frau Kro.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
17	Albert Kro.	0	steril			0	steril	0	0	0	0	0	0	
18	Frau Kl.	Ty	0			0	Ty	0	0	0	0	0	0	Wohnt 3 km entfernt, e 50 J., bekommt Milch, 1906 Typhus gehabt.
19	Franz Kl.	0	0			Ty	0	0	0	0	0	0	0	Sohn von No. 18.
20	Gustav Kl.	0	0			0	0	0	0	0	0	0	0	
21	Heinz U.	0	0			0	0			0	0	0	0	
22	Lene Ste.	0	0	0	0	0	steril			0	0	0	0	
23	Frau Bo.	Ty	Ty	Ty	Ty	Ty	Ty			0	0	0	0	26 J. alt, $2^1/_4$ J. in der D mäne, nie Typhus geh Melkerin.
24	Frau Br.	0	Ty	0	Ty	0	Ty							25 J. alt, $2^1/_4$ J. in der D mäne, nie Typhus geh Melkerin.
25	Berta Fi.	0	0	0		Ty	steril	0	0			0	0	18 J. alt, ca. 10 J. in Domäne, Melkerin.
26	Franz Kr.	0	0			0	0			0	0	0	0	Kutscher.
27	Emilie Isch.	0		0	0	—	—			0	0			Küchenmädchen.
28	Meta Oschl.	Ty	steril	Ty		0	0			0	0	0	0	19 J. alt, in der Dom 2 Mon., nie Typhus geh Köchin.

Name	vor der Bekämpfung						nach der Bekämpfung						Bemerkungen
	2. 12. 07		12. 12. 07		24. 12. 07		15. 1. 08		30. 1. 08		15. 2. 08		
	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	
Amtsrat Sch.	0	Ty	0	Ty	0	0	.		0	0			49 J. alt, Pächter der Domäne, angeblich nie Typhus gehabt.
Frau Sch.	0	0	0	0					0	0			Frau des Pächters.
Annemarie Sch.	0	Ty	0	Ty	0	0			0	0			4 J., Kind des Pächters, Nov. 1907 Typhus.
Hans Sch.	0	0	0	0	0	0			0	0			15 J., Sohn des Pächters. 1904 Typhus.
Reinhold Sch.			0	0	0	0			0	0	0	0	14 J., Sohn des Pächters, 1901 Typhus gehabt.
Elisabeth Sch.			0	Ty	0	Ty	0	0	0	0			13 J., Tochter des Pächters, 1902 Typhus gehabt.
Lotte Sch.			0	0	0	0			0	0			12 J., Tochter des Pächters, 1904 Typhus gehabt.
Bruno Sch.			0	0				0	0	0			11 J., Sohn des Pächters, 1901 Typhus gehabt.
Hanna Sch.			0	0	0	0			0	0			9 J., Tochter des Pächters.
Claus Sch.			0	0	0	0			0	0			6 J., Sohn des Pächters, 1902 Typhus gehabt.
Marie Pö.				0	0	0			0	0			Hausdame beim Pächter.
Agnes Wss.			0	0	0	0							Typhus 1905 gehabt.
30 Personen	Typhusbacillen konnten niemals nachgewiesen werden.												Als Stichproben von den Leuten, welche keine Milch aus der Meierei bekommen.

die Frau tatsächlich in ihrem Stuhlgang fast eine Reinkultur von Typhusbacillen ausschied, die nur von verhältnismäßig spärlichen Coli-Bacillen begleitet war. Gelegentlich konnten wir auch im Harne Typhusbacillen nachweisen. Um unsere Nachforschungen auch auf andere Bacillenträger auszudehnen, so untersuchten wir zunächst jene Personen von der Domäne, welche direkt mit der Milch, sei es als Konsumenten, sei es als Produzenten, in Berührung gekommen waren. Es wurde übrigens festgestellt, daß die im Milchbetriebe zur Zeit beschäftigten Personen sämtlich entweder dauernd oder häufig Milch von der Domäne bekamen. Von den 40 Personen, unter welchen auch die Familienmitglieder des Pächters sind, erwiesen sich, wie die Tabelle II zeigt, 18 als Bacillenträger. Von diesen Bacillenträgern haben, abgesehen von der früher erwähnten Frau U., nur 4, meist vor längerer Zeit, Typhus überstanden. Bei den übrigen konnten wir trotz aller Fragen keine sicheren Anhaltspunkte über Typhuserkrankungen erhalten. Die erwähnten 4 Typhusbacillenträger, die Typhus bestanden hatten, kamen aber für die Weiterverbreitung der Infektion durch die Milch von vornherein deshalb nicht in Betracht, weil sie nachweislich mit dem Milchbetrieb nie etwas zu tun gehabt hatten. Von den übrigen 140 Personen, welche keine Milch aus der Domäne beziehen, wurden eine größere Zahl auf das Vorhandensein von Typhusbacillen untersucht und wir konnten aber bei keiner einzigen von diesen Personen das Vorhandensein von Typhusbacillen

konstatieren. Unsere frühere Voraussetzung, daß die Milch der Ueberträger der Infektion sei, wurde hierdurch wesentlich unterstützt. Es fragte sich nun, ob erstens Frau U. wirklich als die Infektionsquelle zu betrachten sei, ferner ob die anderen 17 Typhusbacillenträger als Dauerträger aufzufassen wären. Es wurde angeordnet, daß erstens Frau U. aus dem Molkereibetriebe völlig ausscheiden solle. Ferner wurde darauf mit Strenge geachtet, daß alle Typhusbacillenträger sich vor dem Melken ihre Hände mit Lysol reinigten und sodann vom Lysol durch Abspülen mit reinem Wasser befreiten. Außerdem wurde die nicht zum Buttern verwandte Milch nur abgekocht an die einzelnen Leute verteilt, während der für die Butterbereitung verwendete Rahm vorsichtshalber pasteurisiert wurde. Jene Typhusbacillenträger, die im Harne Typhusbacillen beherbergten, bekamen außerdem noch zum Zwecke der Blasendesinfektion Urotropin. Nach ca. 1 Monat wurden sämtliche Bacillenträger nochmals untersucht und es ergab sich, daß, während Frau U. nach wie vor stets Typhusbacillen in größter Menge ausschied, die übrigen 17 sich trotz mehrfacher Untersuchungen als nunmehr vollkommen typhusbacillenfrei erwiesen. Es konnte nunmehr kein Zweifel mehr sein, daß tatsächlich Frau U. seit 17 Jahren Typhusbacillendauerträgerin ist und daß jene 17 anderen Personen wohl nur zeitweilig Bacillenträger gewesen waren.

Wenn ich die Resultate dieser epidemiologischen Studie im einzelnen durchgehen darf, so sehen wir vor allem hier bestätigt, daß die gesunden Typhusbacillenträger eine ungeheuere Gefahr bilden, da sie selbst noch viele Jahre nach ihrer Erkrankung infektiös wirken können.

Aus früheren Arbeiten bereits geht hervor, daß wir zwei Hauptgruppen von gesunden Typhusbacillenträgern unterscheiden, solche, die nur kurze Zeit Typhusbacillen beherbergen und solche, die noch länger als 1 Jahr, oft Zeit ihres Lebens Typhusbacillen ausscheiden, Typhusbacillendauerträger. Namentlich letztere haben für uns besondere Bedeutung, da sie leicht unbemerkt bleiben können und dann durch Jahre hindurch zu Epidemien Veranlassung geben können.

Aehnlich wie bei der Diphtherie, können wir auch beim Typhus bei den gesunden Bacillenträgern zwei Kategorieen unterscheiden, erstens Bacillenträger, die an klinisch sicherem Typhus erkrankt gewesen waren, zweitens Bacillenträger, bei denen sich eine voraufgegangene Typhuserkrankung nicht nachweisen ließ. Bei dem größeren Teil der letzteren Gruppe müssen wir wohl dennoch eine allerleichteste Erkrankung annehmen.

Lentz bezeichnet alle gesunden Bacillenträger, bei denen selbst eine Erkrankung der leichtesten Art nicht nachweisbar ist, als „symptomlose Typhen", da bei ihnen „die Widalsche Reaktion in derselben Art und bis zu denselben Serumwerten ansteigt wie bei klinisch typisch Typhuskranken".

Tatsächlich konnte auch ich im Laufe der Jahre mich überzeugen, daß die Sera vieler klinisch nicht krank gewesener Typhusbacillenträger Agglutinationstiter bis zu 2000 aufwiesen, während aber freilich bei anderen der Widal gänzlich negativ verlief.

Wenn man auch für die große Mehrzahl der Fälle nach Lentz einen, wenn auch symptomlosen Typhus annehmen muß, so sprechen doch meine Erfahrungen bei der Domänenepidemie gegen die allgemeine Gültigkeit dieser Anschauung. Denn berechtigterweise kann man wohl nicht ein Festhaften der Typhusbacillen oder ein Erkranktsein bei jenen

unserer Fälle annehmen, die nur im Stuhle Typhusbacillen ausgeschieden hatten, bei denen aber die Typhusbacillen nach Beseitigung erneuerter Typhusbacillenzufuhr von selbst verschwanden. Hier kann es sich nur um ein vollkommen saprophytisches Verweilen der Typhusbacillen im freien Darmlumen gehandelt haben. Ja ich glaube, daß ich gerade durch Erforschung dieser Fälle als erster nachgewiesen zu haben, daß es neben den typhusgenesenen und den sogenannten gesunden Bacillenträgern, bei denen wohl in den meisten Fällen „symptomloser Typhus“ vorliegt, wirklich gesunde Typhusbacillenträger gibt, die gelegentlich Typhusbacillen ausscheiden. Ich möchte, mich anlehnend an den Ausdruck, den E. Friedberger für nicht manifest erkrankt gewesene Cholerabacillenträger eingeführt hat, diese Kategorie von wirklich gesunden Typhusbacillenträgern als Typhusbacillenzwischenträger bezeichnen.

Von Interesse sind auch jene Fälle, bei denen ich, obzwar nicht die geringsten Anhaltspunkte für eine stattgehabte Erkrankung vorlagen, im Harne Typhusbacillen nachweisen konnte. Jedenfalls ist hier ein Weiterdringen der Typhusbacillen vom Darme aus vor sich gegangen, ohne daß es zu den Symptomen einer Erkrankung kam. Ob man aber mit Recht hier annehmen darf, daß hier trotz mangelnder Erkrankungssymptome doch Typhus vorgelegen habe, wage ich nicht zu entscheiden.

Ich habe bereits über die Infektiosität der Typhusbacillenträger gesprochen.

Die Gefahr, die von den Bacillenträgern ausgeht, ist aber selbstverständlich schon deshalb eine so eminente, weil die Stühle und Harne der Leute, die bereits die Erkrankung überstanden haben oder vielleicht sich überhaupt nicht krank gefühlt haben, ohne jede Sorgfalt behandelt werden, während bei den Kranken selbst doch in den meisten Fällen strengste Vorsichtsmaßregeln getroffen werden — ausgenommen ist natürlich das Inkubations- und Frühstadium der Typhuserkrankung, das Conradi mit Recht für besonders gefährlich erachtet.

Die mangelhafte Sorgfalt, die den Ausscheidungen der Typhusbacillenträger zu teil wird, hat meines Erachtens zwei Ursachen; einmal bleiben viele Typhusbacillenträger überhaupt als solche unbekannt, und daß dann Vorsichtsmaßregeln nicht in Betracht kommen, ist ja selbstverständlich; oder aber sie werden eruiert, jedoch selbst dann werden, wenn nicht eine stetige Kontrolle besteht, bei der langen Dauer doch nur in den seltensten Fällen die vorgeschriebenen Vorsichtsmaßregeln (Desinfektion der Ausscheidungen etc.) befolgt werden.

Vor allem also ist es notwendig, die Typhusbacillenträger zu eruieren, und dazu ist es notwendig, bei jeder Epidemie in weitestem Umfange nach solchen zu fahnden. Es wird dies zwar die Zahl der den Untersuchungsämtern zugehenden Untersuchungen wesentlich vergrößern und notwendigerweise die Kosten der Typhusbekämpfung bedeutend erhöhen. Allein nur durch derartige Massenuntersuchungen, die sich im Notfalle auf sämtliche Bewohner einer Ortschaft erstrecken müssen, wird es eventuell möglich sein, langjährige Epidemieen mit einem Schlage auszurotten. Sehr notwendig erscheint es mir — und dies bestätigen ja auch die beiden von mir beschriebenen Epidemiebekämpfungen — daß seitens der bakteriologischen Untersuchungsämter die Untersuchungen zum Teil auch an Ort und Stelle der Epidemie einsetzen müssen.

Jedoch auch nach Feststellung der Typhusbacillenträger bieten sich für die Bekämpfung vorläufig noch große Schwierigkeiten. Gesetzliche

Unterlagen für ein zwangsweises Unschädlichmachen derartiger Personen existieren noch nicht. So war uns die Bekämpfung der Domänenepidemie nur durch den guten Willen des Domänenpächters, dem es selbst daran lag, den Typhus erfolgreich zu bekämpfen, ermöglicht.

Es ist ferner zu verlangen, daß die in Nahrungsmittelbetrieben durchzuführende sanitätspolizeiliche Kontrolle sich auch auf die Eruierung gesunder Bacillenträger erstreckt.

Außerdem ergeben sich bis jetzt noch Schwierigkeiten betreffs der Regelung der Entschädigungspflicht gegenüber solcher von ihrem Erwerb ausgeschlossener gesunder Bacillenträger.

Wir ersehen, daß die Bacillenträger an der Entstehung von Epidemieen in weitestem Umfange beteiligt sein können, und daß deshalb, wenn von vornherein nicht andere Infektionsquellen in Betracht kommen, stets auch Nachforschungen nach Bacillenträgern eingeleitet werden müssen.

Andererseits sehen wir auch, wie kompliziert einerseits die Typhusbekämpfung ist, und daß andererseits nur eine großzügige Typhusbekämpfung zum Ziele führen kann.

Kombination von Aktinomykose und Adenocarcinom des Dickdarms[1].

[Aus dem pathologischen Institut der Universität Kiel.]

Von Dr. **Hans Burckhardt.**

Daß häufig chronische Entzündungen (parasitären oder anderen Ursprungs) und bösartige Geschwülste auf demselben Boden nebeneinander vorkommen, ist eine allbekannte Tatsache. Nach der Anschauung vieler Autoren sollen sogar erstere die hauptsächlichsten Ursachen für die Entstehung der letzteren sein. Man spricht von der Entstehung eines Krebses auf dem Boden eines Lupus, eines runden Magengeschwürs, eines Unterschenkelgeschwürs, einer Lebercirrhose u. s. w. Ein Fall indes, bei welchem Krebs mit Aktinomykose kombiniert an ein und derselben räumlich engbegrenzten Stelle des menschlichen Körpers vorhanden war, scheint bisher nicht bekannt zu sein, soviel ich aus der mir zugänglichen Literatur habe entnehmen können. Deswegen ist wohl eine genauere Besprechung auch nach der anatomisch-histologischen Seite hin angezeigt.

Als Vorbemerkung sei mit gütiger Erlaubnis von Herrn Geheimrat Petersen das Wesentlichste aus der Krankengeschichte hier mitgeteilt:

Frau A. B., Witwe, 38 Jahre alt, wurde am 4. Juli 1907 in das hiesige Anscharhaus aufgenommen.

Patientin ist in ärztlicher Behandlung seit Ende Mai gewesen wegen allgemeiner Schwäche und starker Abmagerung. Nach Bericht des Arztes seit 4 Wochen Verschlimmerung. Seit 14 Tagen zu Bett wegen entzündlicher Erscheinungen in der linken Oberbauchgegend. Zeitweise heftige kolikartige Schmerzen, die vom Arzte als von der Niere ausgehend gedeutet wurden.

4. Juli. Bei der Untersuchung nach der Aufnahme im Anscharhaus fühlt man einen Tumor, der nach unten bis zur Spina a. s. reicht, nach der Mitte zu 3 Querfinger

---

1) Das Präparat ist bereits demonstriert worden in der Medizinischen Gesellschaft zu Kiel im Dezember 1907.

vom Nabel entfernt endet. Nach oben verschwindet er unter dem Rippenbogen. Oberfläche uneben, Tumor sehr empfindlich, mäßig verschieblich. Nach einwärts von diesem Tumor fühlt man einen anderen, ca. 2 Finger breiten wurstförmigen Tumor, der ungefähr von oben nach unten ziemlich gerade verläuft, sich aber nach allen Seiten bewegen läßt. Er ist auch etwas wegdrückbar, so daß er vermutlich Colon transversum oder ascendens ist.

10. Juli. Funktion des rechten Ureters normal. Links wird auch bei Katheterisierung des Ureters keine Tätigkeit bemerkt. Urin ohne Eiweiß und Zucker, reichlich ausfallende Urate, keine Leukocyten.

15. Juli. Nach remittierendem Fieber Operation. Schrägschnitt vom äußeren Drittel der 12. Rippe nach vorn und abwärts bis 2 Querfinger nach innen von der Spina a. s. Latissimus dorsi und Bauchmuskeln werden scharf durchtrennt, worauf man auf den Tumor kommt, der in Schwielen eingebettet ist. Dabei stellt sich heraus, daß der Tumor nach unten und oben in Darm übergeht und gar nicht, wie erst vermutet war, die Niere ist. Diese sitzt nach oben geschoben dem Tumor auf. Ihre Fettkapsel ist im unteren Pol in den Tumor einbegriffen. Nach vorn ist die Milz an ihm adhärent, aber leicht davon zu lösen. Der Tumor wird isoliert und nach Abklemmung des zu- und abführenden Stückes abgetragen. Die Darmenden werden zirkulär vereinigt. Der linke Ureter ist intakt. Die ebenfalls hervorgeholte Niere war leicht vergrößert und cyanotisch, bot aber sonst nichts Besonderes. Schließen der Wunde und Jodoformstreifentamponade.

Die Entfernung des Tumors war recht schwierig. Nach oben und innen mußten einige Stränge zurückgelassen werden, die nicht mit Sicherheit einwandsfrei waren, aber doch mehr den Eindruck von entzündlichen Bindegewebssträngen machten.

Diagnose: Carcinom der linken Flexur des Colons.

Im weiteren Verlaufe, der sonst ungestört war, hat sich eine Kotfistel gebildet. Der Stuhlgang wurde allmählich ziemlich regelmäßig.

18. Sept. wurde Pat. entlassen. Die Kotfistel hat sich dann später geschlossen. Pat. befindet sich nunmehr körperlich ganz wohl.

Das exstirpierte Stück wurde zur Untersuchung ans pathologische Institut geschickt.

Das ganze Präparat hat annähernd die Form und Größe einer großen menschlichen Niere ($13 \times 10 \times 5^1/_2$). Die ganze Peripherie wird eingenommen von dem ziemlich stark kontrahierten, $2^1/_2$—3 cm im Durchmesser haltenden Darm. Legen wir den Vergleich mit der Form einer Niere zu Grunde, so tritt das zuführende Darmstück am Hilus ein, der Darm läuft an der ganzen Peripherie herum, bis er als abführendes Stück wieder am Hilus den Tumor verläßt. Bei einem Durchschnitt, der so gemacht ist, wie der Durchschnitt einer Niere bei der Sektion, wird natürlich auch der außen herumlaufende Darm in ganzer Länge halbiert. Das Zentrum der Geschwulst (8 cm breit, 8 cm lang) wird eingenommen durch ein weißliches, schwieliges Gewebe, in das eingesprengt Fettgewebe liegt. Dieses schwielige Zentrum, der eigentliche „Tumor“, ist scharf abgegrenzt vom Darm durch dessen hypertropische, deutlich sichtbare äußere Muskelschicht. Die Hauptmasse des Präparates kommt also auf Rechnung des entzündlich vergrößerten Mesenteriums und vielleicht der Serosa.

Inmitten der schwieligen Partie sieht man auf dem Durchschnitt nahe dem „Hilus“, daß das Gewebe zerfallen, wie wurmstichig ist, von eigentümlichen, mit wenig Eiter belegten Fisteln durchsetzt. Hierin eingelagert finden sich da und dort graue, gallertig durchscheinende, runde, sagoähnliche Klümpchen.

An der Stelle der Peripherie des Präparates, welche dem „Hilus“ gegenüberliegt, ist die Schleimhaut des Darmes in einer Länge von ca. 5 cm ersetzt durch eine mehr markige, ungleichmäßig höckerige Partie, die an einzelnen Stellen sich zu flachen Polypen erhebt, an anderen Stellen nur zerklüftet und wie zerfallen aussieht. In ihrem Bereiche ist die Lichtung des Darmes eingeengt, so daß sie nur für den kleinen Finger eben noch durchgängig ist. An einer Stelle sieht man auch auf

eine kurze Strecke die sonst überall scharfe Grenze zwischen Schleimhaut und Muscularis etwas verwaschen. Gegen die normale Schleimhaut ist die genannte Partie scharf mit einer zackigen Grenze abgesetzt.

Durch die mikroskopische Untersuchung wird zunächst bestätigt, was schon makroskopisch zu sehen war, daß das Präparat in seiner Hauptmasse, d. h. vom Darm abgesehen, aus einem etwas ödematösen schwieligen Gewebe besteht, in das an zahlreichen Stellen Nester von Fettzellen eingelagert sind.

Schnitte aus der Gegend der kleinen eitrigen Höhlen und Fistelgänge zeigen, daß diese Eiterherde bald sehr klein sind, bald mehrere Gesichtsfelder bei mittlerer Vergrößerung einnehmen. Sie bestehen aus dicht gelagerten, polynukleären Leukocyten und grenzen entweder ziemlich unvermittelt an das schwielige Gewebe oder sie sind umgeben von einer Zone sehr gefäßreichen Granulationsgewebes, das man meist noch eine Strecke weit in die leukocytäre Infiltration hinein verfolgen kann. Im Innern sind die größeren Herde vollständig erweicht und mit Exsudat erfüllt.

Inmitten der Eitermassen liegen nun kleine Gebilde, die bald kreisförmig, bald durch unregelmäßige geschwungene Linien begrenzt sind, sich mit Eosin verwaschen färben und dabei ein ungleichmäßig wolkiges Aussehen haben. Ihre Aehnlichkeit mit Actinomyces-Drusen ist unverkennbar. Wo durch die Alkoholbehandlung die Gewebsbestandteile sich retrahiert haben und um diese Drusen ein Spalt aufgetreten ist, haftet ihnen noch ein einfacher Kranz von Leukocyten an. Deutliche Kolben konnten nicht gefunden werden. Die Gram-Färbung ergab stets nur, daß die meisten dieser Drusen erfüllt sind von bald feineren, bald etwas gröberen Stäbchen, zwischen denen stellenweise zahlreiche kokkenähnliche Kügelchen, oft in Reihen angeordnet, liegen. Verzweigung von Fäden ist nur noch in minimalen Resten vorhanden. In einzelnen dieser Drusen hat das Zentrum begonnen, zu verkalken. Von den ganz verkalkten Drusen, denen mehr ein rein schwieliges oder ein Granulationsgewebe anliegt, wird sofort die Rede sein. Außerhalb der Drusen in den Eiterherden sind Stäbchen nur in sehr minimaler Menge nachzuweisen.

Zusammen mit dem ganzen Verhalten des Gewebes ergibt sich mit großer Wahrscheinlichkeit, daß es sich um Actinomyces-Drusen handelt, die im Absterben begriffen sind, oder vielleicht um Actinomyces-ähnliche Parasiten, worauf unten noch kurz zurückzukommen sein wird.

Stellenweise nun finden sich in dem schwieligen Gewebe außer den Eiterherden noch andere Dinge. Das Gewebe ist hier weniger gleichartig, zeigt größere, vielgestaltigere Bindegewebszellen und ist von massenhaften, sehr schönen Riesenzellen durchsetzt, die in ihrem Innern viele gleichmäßig verteilte Kerne haben. Diese Riesenzellen liegen entweder frei in dem übrigen Gewebe oder sie liegen allerhand kleinen Fremdkörpern an, sie gleichsam umfließend und sich ihnen eng anschmiegend. Diese Fremdkörper sind von zweierlei Natur. Einmal handelt es sich zweifellos um vollständig verkalkte Pilzdrusen, die sich noch als solche dokumentieren durch ihre Form und Größe. Einzelne von ihnen sind nicht von Riesenzellen umgeben, sondern von einem einfachen Kranze von Leukocyten.

Die andere Art Fremdkörper, denen meist solche Riesenzellen anliegen, sind pflanzlichen Ursprungs. Besonders in die Augen fallen

kleine Figuren, die einem regelmäßigen Gitter gleichen und Querschnitte von Grannenbruchstücken sind. Da die meisten mit Hämatoxylin sich tief blau färben, so ist wohl anzunehmen, daß auch sie meist verkalkt sind. Diese Gitterfiguren entsprechen ihrer Form nach genau dem von Boström in Zieglers Beiträgen auf Taf. VIII, Fig. 2a wiedergegebenen Bilde. Außerdem sind noch allerhand andere als Pflanzenteile anzusprechende Fremdkörper zu sehen, kleine, wie abgebrochene, ebenfalls verkalkte Stöckchen, scharf konturierte, homogene, glänzende, starre Fasergebilde, die Längsschnitte von Grannenteilen sein dürften u. s. w. Auch diesen liegen meist Riesenzellen an.

Was die zerklüftete, teilweise papillär vorspringende Partie im Bereich der Darmschleimhaut anlangt, so ergibt die mikroskopische Untersuchung ein Adenocarcinom. Es scheint allseitig durch das ödematöse schwielige Gewebe von den aktinomykotischen Herden getrennt zu sein. Die Neubildung besteht gleichmäßig aus Drüsenalveolen mit meist einschichtigem, dunklem Epithel, das gänzlich differiert von dem Epithel des Dickdarms. Die Drüsen sind wild durcheinander gewuchert, durch stärkere Bindegewebszüge zu Gruppen vereinigt. Daß es sich um ein Carcinom, nicht um einen bloßen Polypen handelt, geht daraus hervor, daß wenige kleine, kreisrunde Nester, bestehend aus zahlreichen Drüsenalveolen, in der Längsmuskulatur des Darmes sitzen. Im ganzen scheint das Carcinom sich noch wenig in die Tiefe ausgebreitet zu haben, so daß man es trotz seiner verhältnismäßig großen Flächenausdehnung noch als ein beginnendes bezeichnen kann.

Wie sind nun diese Befunde des genaueren zu deuten?

Die massenhafte Verkalkung von Drusen beweist, daß stellenweise die Pilze abgestorben sind. Aber auch die noch nicht verkalkten Drusen, die inmitten von Eiterherden liegen, scheinen dem Zerfall entgegenzugehen. Denn durch die Gram-Färbung lassen sich nur noch Bruchstücke von Pilzfäden und kokkenähnliche Gebilde darstellen, und solches findet man in Actinomyces-Drusen, die sich in regressiver Metamorphose befinden. Es scheint hier indes nicht zur Bildung der spröden Kolben gekommen zu sein, das mikroskopische Bild spricht mehr dafür, daß die Pilzrasen in eine weiche, gallertige Masse umgewandelt worden sind. Denn die Art, wie sich die Grundsubstanz der Drusen mit Eosin färbt, steht im Gegensatz zu der klaren und distinkten Färbung von Kolben.

Für eine im Erlöschen begriffene Lebensfähigkeit der Pilze spricht auch, daß eben die geschilderte Form des Tumors zu stande gekommen ist mit relativ nur geringen Verwachsungen und keiner Tendenz zur Weiterverbreitung. Diese Verhältnisse weichen einigermaßen von dem gewöhnlichen Verhalten der Darmaktinomykose ab, die sich ja sonst durch ausgedehnte schwartige Verwachsungen mit der Umgebung dokumentiert.

Dies, sowie das Fehlen von wirklichen Kolben und langen, verzweigten Pilzfäden läßt die Frage berechtigt erscheinen, ob eine echte Aktinomykose vorliegt. Gegen die oben gegebene Deutung, daß es sich um in regressiver Metamorphose begriffene Actinomyces-Pilze handelt, läßt sich kein sicherer Einwand erheben. Obwohl aber alle Befunde mit echter Aktinomykose wohl übereinstimmen und kein Gegenbeweis möglich ist, mahnen doch gerade neuere Untersuchungen zur Vorsicht (vergl. z. B. Berestnew, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX). Es wäre denkbar, daß der in Frage kommende Parasit sich kulturell anders

verhalten hätte als der Actinomyces-Pilz, wenngleich er auch histologisch im allgemeinen dasselbe Bild geliefert hat. Leider war auch nach der Exstirpation des Tumors an der Diagnose, daß das Ganze ein Carcinom sei, zunächst nicht gezweifelt worden, so daß das Präparat sofort zur Konservierung im ganzen in Pick sche Flüssigkeit gelegt wurde. Somit war die Möglichkeit genommen, Kulturen anzulegen. Sollte es sich aber hier auch um eine Pseudoaktinomykose im Sinne Berestnews handeln, so bleibt dieser Fall von Kombination mit Carcinom doch interessant genug, um so mehr, als die Stellung dieses sogenannten Pseudoactinomyces zum echten Actinomyces noch keineswegs geklärt ist.

Bemerkt sei noch, daß ein Versuch, die Parasiten nach Ziehl zu färben, negativ ausfiel.

Bis die eben genannten Fragen entschieden sind, wird man sich also auf keinen Fall eines großen Fehlers schuldig machen, wenn man diesen Tumor der Aktinomykose zurechnet.

Ueber die Beziehungen zu dem Carcinom sei noch in Kürze folgendes bemerkt:

Entsprechend der in weiten Kreisen anerkannten Anschauung, daß im Anschluß an chronische Entzündungen, hervorgerufen durch lange anhaltende mechanische oder chemische Reize, sich ein Carcinom entwickelt, könnte man auch hier annehmen, das das Primäre die Aktinomykose sei. Aber auch die entgegengesetzte Deutung ist möglich und hat sehr viel für sich. Wir wissen, wie lange ein Carcinom bestehen kann, ohne sich merklich zu vergrößern, ohne irgend schwerere Erscheinungen zu machen. Man kann sich daher leicht vorstellen, daß eine Getreidegranne an dem papillösen, die Darmlichtung etwas einengenden Tumor ein Hindernis gefunden und sich, mit den Pilzen behaftet, eingespießt hat. Hierdurch wird ferner erklärt, wie auch wenig lebensfähige Pilze hier haben eindringen und sich festsetzen können, wo ihnen dies erleichtert war durch das weiche, zum Zerfall neigende Carcinomgewebe, das außerdem noch durch entzündlichen Reiz die Umgebung bereits geschädigt hatte.

Was also auch das Primäre gewesen sein mag, ein ursächlicher Zusammenhang beider pathologischer Veränderungen muß mit Sicherheit angenommen werden.

Das Vorkommen der Rotlaufbacillen in der Gallenblase von Schweinen, die die Infektion überstanden haben.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **W. Pitt,** städtischem Tierarzt.

Beim Studium der Typhusepidemieen ist in den letzten Jahren durch eine große Reihe von Arbeiten der einwandfreie Beweis erbracht worden, daß in erster Linie der typhuskranke Mensch für die Weiterverbreitung in Betracht kommt, speziell scheint bei einer großen Zahl von „chronischen Bacillenträgern“ die Ansiedelung der Typhusbacillen in der

Gallenblase die eigentliche Ursache der protrahierten Bacillenausscheidung zu sein.

Bei einer tierischen Krankheit, bei der in analoger Weise wie beim Typhus Ausscheidungen der Keime mit dem Kot stattfinden, nämlich beim Rotlauf der Schweine (Cornevin und Kitt), liegen Untersuchungen darüber, wie lange in der Rekonvaleszenz die Bakterien ausgeschieden werden und ob sie dann noch infektionstüchtig sind, nicht vor.

Diese, noch der Lösung harrenden Aufgaben sind deshalb so schwer zu bearbeiten, weil einmal aus wirtschaftlichen Gründen die an Rotlauf erkrankten oder dieser Seuche verdächtigen Schweine sofort dem Schlachtmesser überliefert werden, zum anderen Male die schwer erkrankten Tiere in ganz kurzer Zeit dieser, in Form einer Septikämie verlaufenden Seuche zum Opfer fallen.

Die Zahl der Rekonvaleszenten ist demgemäß eine verschwindend kleine. Sie wird allerdings durch die Menge derer, die die leichte Form des Rotlaufs (Urticaria) überstanden haben, vermehrt.

Mir schien es nun von Interesse, zu untersuchen, ob in Analogie mit der Persistenz der Typhusbacillen in der Galle des Menschen ähnliche Verhältnisse auch beim Rotlauf der Schweine vorlägen, d. h. ob die Gallenblase eine Prädilektionsstelle während und nach erfolgter Rekonvaleszenz sei.

Leider war die Zahl der Fälle, die zu diesem Zweck zur Verfügung standen, eine beschränkte, weil die Rotlaufseuche in der kalten Jahreszeit (die Untersuchungen fanden von Oktober bis Dezember statt) nur ganz selten auftritt.

Es gelang mir, auf dem hiesigen Schlachthof 5 Schweine ausfindig zu machen, die die leichte Form des Rotlaufs (Urticaria) bereits überstanden hatten. Die charakteristischen roten, meist quadratischen Flecke waren schon so verblaßt und klein geworden, daß sie als Residuen der Urticaria nur bei genauester Untersuchung vom Auge des Sachverständigen entdeckt werden konnten und ein Irrtum hierbei nicht ausgeschlossen war.

Es wurde nun zur näheren Untersuchung dieser Fälle in der Weise vorgegangen, daß der größte Teil der Galle nach Ablösung der Gallenblase von der Leber ausgedrückt und der Rest in ein steriles Reagensglas getropft wurde. Diese aufgefangene Galle wurde sodann mit steriler Bouillon vermischt und bei 37° C 24 Stunden bebrütet. Die aus der Galle angefertigten Ausstrichpräparate zeigten nur einmal einige den Rotlaufstäbchen ähnliche Gebilde, die die Gram-Färbung schwer annahmen; die aus der bebrüteten Bouillongalle hergestellten Ausstriche dagegen ließen zweimal Gram-positive, schlanke Stäbchen erkennen.

Nach diesem Anreicherungsverfahren wurden eine Reihe Gelatineplatten gegossen und im Brutschrank bei 22° aufgestellt.

Es gelang nun bei der am 3. Tage mit der Lupe vorgenommenen Durchmusterung der Gelatineplatten in 2 von den 5 verarbeiteten Fällen kleine, weiße Kolonieen zu entdecken, die unter dem Mikroskop ein ziemlich großes Zentrum und schwach angedeutete Verästelung zeigten.

Zwecks Isolierung und genauerer Diagnostizierung wurden mittels Platinnadel von diesen Kolonieen Rasen abgestochen, in flüssige Nährgelatine gebracht und nach Anlegung der drei Verdünnungen bei 22° dem Wachstum überlassen. Am 3. Tage waren feine, weiße, flockenähnliche Kolonieen sichtbar, die trotz ihrer in der zweiten und dritten Verdünnung ganz geringen Anzahl ein sehr langsames Wachstum er-

kennen ließen, so daß die typische Struktur, die feine, weit verzweigte Verästelung der Rotlaufkolonie, fast ausblieb.

Um den Zweifel, ob auch wirkliche Rotlaufkolonieen vorhanden seien, zu beseitigen, wurde der Tierversuch hinzugezogen. Es wurde eine Maus subkutan mit Gelatinereinkultur in großen Mengen geimpft. Nach 5 Tagen erlag das Tier der Infektion, nachdem sich an den beiden letzten Tagen geringgradige typische Krankheitserscheinungen (mäßige Conjunctivitis, Obstipatio) bemerkbar machten. Im Nierenaustrich ließen sich recht wenige, nach Gram positiv gefärbte, schlanke Stäbchen nachweisen, ebenso war die Zahl der in Gelatine gewachsenen Kolonieen eine recht kleine, dafür aber die für Rotlaufkolonieen charakteristische Wuchsform vorhanden, kleines, granuliertes Zentrum mit vielen feinsten Ausstrahlungen, den Knochenzellen ähnlich. Vereinzelte Kolonieen der dritten Verdünnung wuchsen nach 14 Tagen zu großen, schönen, gelappten, der Baumflechte ähnlichen Gebilden aus. Die aus ihnen angelegten Gelatinestichkulturen zeigten nach 8 Tagen die bekannte Form der Gläserbürste.

Zur Steigerung der Virulenz wurde mit den letzten Gelatinereinkulturen nochmals eine Maus infiziert, deren Tod erst nach 7 Tagen eintrat. Durch Verimpfung einer aus ihr gewonnenen Agarkultur auf eine dritte Maus gelang es nunmehr, die Virulenz so zu steigern, daß das Versuchstier am 3. Tage verendete. Die Bakterien ließen sich in Haufen als Gram-positive, feine Stäbchen in Organ- und Blutausstrichen nachweisen, ebenso wuchsen die Kolonieen auf Agar, Gelatine und in Bouillon wie echte Rotlaufstäbchen.

Zur weiteren Identifizierung der Bakterien wurde endlich noch die Agglutination herangezogen, und zwar wurde einer der beiden so gewonnenen Stämme in folgender Weise agglutiniert: Da die Rotlaufkolonieen sehr spärlich auf Agar wachsen, auch dem Nährboden fest anhaften, so wurde von dem einen Stamm eine Anzahl Rotlaufbouillonröhrchen angelegt und statt einer Vollöse-Kultur 1 ccm Bouillonkultur den Serumverdünnungen zugesetzt. Es wurde das staatlich geprüfte Prenzlauer Serum zur Agglutination verwendet, und zwar in folgenden Verdünnungen:

1:20	++	1:320	+
1:40	++	1:640	+
1:80	++	1:1280	+
1:160	++	1:2560	±

Wie aus der Tabelle ersichtlich, war die Agglutination noch in einer Verdünnung von 1:1280 positiv.

Während Jensen bei der Urticaria die Rotlaufstäbchen in den Lymphspalten der erkrankten Hauptpartieen nachwies, gelang es Junack in 2 von 3 Fällen auch in den inneren Organen die Erreger zu finden.

Daß sie sich aber nicht nur bei den offensichtlich kranken Tieren in den Organen nachweisen lassen, sondern auch bei den Rekonvaleszenten, beweisen die vorliegenden Befunde. Denn morphologisch, kulturell und biologisch unterscheiden sich die gefundenen Bacillen in nichts von den Rotlauferregern.

Es ist der Gedanke nicht von der Hand zu weisen, daß bei diesen „Bacillenträgern" ab und zu Ausscheidungen aus der Gallenblase in den Darm und von da in die Außenwelt stattfinden. Sollte durch weitere Untersuchungen der Beweis erbracht werden, daß die Gallenblase nach überstandener Rotlaufinfektion eine häufige Ansiedelungsstätte der Er-

reger ist, so bliebe immer noch zu erwägen, ob diese Form der Bacillenausscheidung überhaupt von Bedeutung ist gegenüber der von Olt, Bauermeister, C. O. Jensen und Pitt festgestellten Tatsache des Vorkommens der Rotlaufstäbchen im Darm und in den Tonsillen gesunder Schweine.

Daß die Bakterien in der Tat recht lange in der Gallenblase vegetieren, dafür spricht folgender Befund:

Dem Schlachthof wurde ein ausgeschlachtetes Schwein überwiesen, bei dem ein kachektischer Zustand festgestellt wurde, durch eine Endocarditis valvularis verrucosa verursacht.

Nach Bang, dem wir über diese Endocarditis genauere Untersuchungen verdanken, entwickeln sich die Auflagerungen an den Herzklappen im Anschluß an eine überstandene Rotlaufinfektion, und es lassen sich in diesen Produkten Erreger in großer Zahl nachweisen.

Es konnten jedoch bei dem zur Untersuchung vorliegenden Fall in den Auflagerungen an den Herzklappen keine Erreger mehr nachgewiesen werden, was dafür spricht, daß seit dem Eintritt der Infektion mehrere Monate dahingegangen waren.

Denn die Mehrzahl der Fälle endet nach ca. 8 Wochen wegen mechanischer Behinderung der Zirkulation tödlich (Bang), und es gelingt dann immer, die Erreger nachzuweisen.

Da die Gallenblase bereits bis auf Reste entleert worden war — es war nur noch grüngefärbter Gallenschleim vorhanden — so wurden ihr einige Oesen dieses Gallenschleims entnommen, in flüssiger Nährgelatine aufgeschwemmt und Verdünnungen angelegt. Es wuchsen bei 22° Temperatur nach 2 Tagen Kolonieen, die sich in nichts von denen des Rotlaufs unterschieden. Eine von ihnen angelegte Stichkultur wuchs als feiner, weißer Faden, dem langsam spärliche Ausläufer entstrahlten. Eine mit Gelatinekultur geimpfte Maus erlag erst nach 9 Tagen der Infektion.

Es gelang nicht, durch Verimpfung von Organstücken der eingegangenen Maus, die Virulenz zu steigern. Kultur und Ausstrich brachten den Beweis, daß das Tier der Rotlaufinfektion erlegen war. Auch diese zweite Maus starb erst nach 8 Tagen. Ebenso gelang es nicht, durch Weiterzüchten der Bakterien auf frischen Nährböden ihre Virulenz zu steigern.

Die Behauptung, daß die Gallenblase bei den Rekonvaleszenten der schweren Form des Rotlaufs eine Prädilektionsstelle und ein Receptaculum für die Rotlauferreger ist, kann noch durch einen zweiten Befund erhärtet werden.

Es wurden bei einem Schwein, das auf dem hiesigen Schlachthof geschlachtet wurde, bei der Fleischbeschau an den Herzklappen bedeutende, teils polypen-, teils warzenartige Auflagerungen gefunden. Ausstriche aus ihnen bestätigten den Verdacht auf Rotlaufendocarditis. Es konnten feine, schlanke, oft gekrümmte, grampositive Stäbchen nachgewiesen werden.

Der Gallenblase, deren Schleimhaut verdickt und entzündlich gerötet war, wurden einige Oesen Gallenschleim entnommen und in verschiedenen flüssigen Gelatineröhrchen verteilt, aus denen Platten gegossen wurden. Bei Zimmertemperatur wuchsen nach 4 Tagen zarte, weiße Kolonieen, die ein großes Zentrum und kümmerliche Ausläufer zeigten. Weiterzüchtung durch Abimpfung ergab etwas schnelleres Wachstum, jedoch blieb die grobe Struktur.

Auch die Gelatinestichkultur zeigte nicht die Form der Gläserbürste, sondern von der Achse abgehende körnige Anschwellungen. Eine mit Gelatinereinkultur infizierte Maus starb nach 4 Tagen unter den typischen klinischen Erscheinungen (Blennorrhöe, Obstipatio). In Blut- und Nierenausstrich ließen sich zahlreiche gramfeste, schlanke Stäbchen nachweisen; auf Agar wuchsen nach 24 Stunden hauchartige, tautropfenähnliche Kulturen; ebenso in Gelatine die typische Wuchsform.

Die aus der Gallenblase isolierten Rotlaufstäbchen waren somit bei weitem virulenter als die im ersten Fall.

Es läßt sich nunmehr die Schlußfolgerung nicht von der Hand weisen, daß auch beim Schwein die Erreger der Rotlaufseuche, wenn sie aus dem infizierten Organismus verschwinden, ihre letzte Aufenthaltsstätte in der Gallenblase finden, wo sie sich am längsten lebensfähig halten. Ihre Lebensfähigkeit darf nicht Wunder nehmen, da seit langem die Tatsache bekannt ist, daß die in die Gallenblase hineingelangten Bakterien sich sehr lange in ihr halten können.

Als Quelle der Ansteckung kommen jedoch diese mit Endocarditis valvularis verrucosa behafteten Schweine wenig in Betracht, da die Zahl der mit diesem Leiden behafteten Tiere nach Burggrafs Untersuchungen eine minimale ist. B. fand auf dem Schlachthof zu Guben bei 30000 Schweinen nur 4mal Rotlaufendocarditis. Dazu kommt, daß die Tiere, welche die schwere Rotlaufform überstanden haben, recht bald abgeschlachtet werden, weil sie meistens auffallend in der Entwickelung zurückbleiben. Es werden also von den Tierhaltern schon aus rein wirtschaftlichen Gründen diese „chronischen Bacillenträger“ aus den Ställen entfernt und so in radikaler Weise etwaigen erneuten Infektionen von der Gallenblase aus vorgebeugt.

Das Resultat meiner Untersuchungen kann ich kurz dahin resümieren:

1) die Gallenblase kann bei Schweinen, die den Rotlauf (leichte und schwere Form) überstanden haben, eine Aufenthaltsstätte dieser Erreger sein;

2) sie können sich daselbst sehr lange halten;

3) sie sind lebensfähig und virulent.

Herrn Geheimrat R. Pfeiffer spreche ich für die gütige Erlaubnis zur Bearbeitung dieses Themas in seinem Institut und das fördernde Interesse meinen verbindlichsten Dank aus.

Literatur.

Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermannn. Ergänzungsband 1906.

Cornevin, Première étude sur le rouget du porc. Paris 1895.

Kitt, Untersuchungen über den Stäbchenrotlauf der Schweine und dessen Schutzimpfung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. II.)

Jensen, C. O., Ueber Nesselfieber, trockene Hautnekrose und Rotlauf beim Schwein. (Ref. in Baumgartens Jahresberichten. 1891.)

Junack, Zur sanitätspolizeilichen Beurteilung der mit Backsteinblattern behafteten Schweine. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene. Jahrg. XVII.)

Olt, Ueber das regelmäßige Vorkommen der Rotlaufbacillen im Darme des Schweines. (Deutsch. tierärztl. Wochenschr. 1901. No. 5.)

Bauermeister, Ueber das ständige Vorkommen pathogener Mikroorganismen, insbesondere der Rotlaufbacillen in den Tonsillen des Schweines. [Inaug.-Diss.] Bern 1901.

Jensen, C. O., Om Rodsygebacillens Forekomst par Slimhinolerne Ros sunde Svin. Kobenhaven 1902.

Pitt, Beiträge zum regelmäßigen Vorkommen der Rotlaufbacillen auf der Darmschleimhaut und den Tonsillen gesunder Schweine. (Inaug.-Diss. und Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLV. 1907. Heft 1 u. 2.)
Bang, Ueber Rotlaufendocarditis bei Schweinen. (Ref. in Baumgartens Jahresberichten 1891.)
Burggraf, R., Zur Häufigkeit der Rotlaufendocarditis beim Schwein. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. Jahrg. XI.)

Studien über die Endolysine.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Karolinischen Institutes in Stockholm.]

Von Dr. **Alfred Pettersson.**

Schon seit einiger Zeit ist es bekannt, daß die Leukocyten im Reagenzgläschen bakterizide Wirkung entfalten. Anfangs wurden sie hauptsächlich deshalb studiert, weil sie als die Quelle der Serumalexine angesehen wurden. Deshalb wurden die zwei Bestandteile des Exsudats, die Leukocyten und die seröse Flüssigkeit, auch nicht getrennt untersucht, sondern man begnügte sich, nachzuweisen, daß die leukocytenreichen Exsudate die Bakterien leichter vernichten als das Blutserum. Hahn (1) war der erste, der die Leukocyten vom Exsudatserum trennte und Versuche mit den isolierten Eiterzellen anstellte. Er setzte die Leukocyten zum Blutserum und konnte bei dieser Anordnung eine Erhöhung der bakteriziden Wirkung des Serums nachweisen. Die Identität der beiden Substanzen, die bakteriziden Stoffe der Leukocyten und die Serumalexine, wurde nicht angezweifelt. Schattenfroh (2) wies aber bei den bakteriziden Leukocytenstoffen Eigenschaften nach, die mit den der Serumalexine nicht übereinstimmten. Die ersteren waren im allgemeinen bedeutend widerstandsfähiger gegen Erhitzen als die letzteren; die Serumalexine entfalteten nur bei Anwesenheit von Neutralsalzen ihre bakterienfeindliche Wirkung, während die bakteriziden Leukocytenstoffe in Bezug auf diese Wirkung unabhängig sind vom Salzgehalte der Flüssigkeit. Gewisse Unterschiede in der Wirkungsweise sind, wie ich hervorgehoben habe, bisweilen zu bemerken (3).

Im Jahre 1895 machten die belgischen Forscher Denys und Leclef (4) die Beobachtung, daß die Mischung von Serum und Leukocyten vom Kaninchen keimtötend auf Streptokokken wirkt, während das Serum sowohl nach wie vor der Berührung mit den weißen Blutkörperchen sich als völlig unwirksam erweist. Sie folgerten daraus, daß die Keimvernichtung ihre Ursache in der Anwesenheit der Leukocyten hat. Auch Schattenfroh (2) fand bei seinen Untersuchungen, daß die keimfeindlichen Substanzen der Leukocyten im innigen Zusammenhang mit den Zellen stehen, denn ein einmaliges Einfrieren genügte nicht, um diese Stoffe aus den weißen Blutkörpern zu entfernen.

Durch zahlreiche, vielfach variierte Versuche habe ich mich davon überzeugt, daß die bakteriziden Leukocytenstoffe erst nach großer Schädigung der Zellen aus diesen austreten. Werden die Leukocyten z. B. durch Einfrieren, Erhitzen oder durch Vergiftung zu Grunde gebracht, so kann man sie in Lösung bekommen. Von lebenden, normalen Zellen werden sie an die umgebende Flüssigkeit nicht abgegeben und im

Blutplasma bezw. Serum kommen sie deshalb nicht vor. In dieser Hinsicht ähneln sie den Endoenzymen und Endotoxinen. Deshalb habe ich für sie den Namen Endolysin vorgeschlagen.

I. Physikalische Eigenschaften und Konstitution der Endolysine.

Aus verschiedenen Organen von Säugetieren wurden von Korschun und Morgenroth (5) hämolytische Substanzen gewonnen, welche sich durch mehrere Eigenschaften von den gewöhnlichen Hämolysinen des Serums unterscheiden. Im Gegensatz zu den letzteren sind sie alkohol- und ätherlöslich, kochbeständig und nicht komplex. Sie wirken ferner nicht als Antigene. Um zu sehen, ob die aus den Leukocyten extrahierten bakteriziden Stoffe sich analog verhalten, wurde zuerst ihre Löslichkeit in Alkohol untersucht. Das mit Kochsalzlösung in gewöhnlicher Weise durch wiederholtes Einfrieren hergestellte Extrakt wurde zusammen mit den Trümmern der Leukocyten mit der 20-fachen Menge reinsten absoluten Alkohols gemischt. Die Mischung wurde gut geschüttelt und nach einiger Zeit zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wurde filtriert und sodann bei + 40° C eingedampft. Der alkoholunlösliche Bodensatz wurde nach Waschen mit reinem Alkohol bei derselben Temperatur getrocknet. Der Rückstand des eingedampften Alkohols wurde

Tabelle I.

Serum und 1 g Leukocyten vom Kaninchen, beide in der angegebenen Weise behandelt.
Einsaat: Proteus mirabilis Sthlm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 11 Std.	Nach 24 Std.
1 ccm Kaninchenserum	3625 im Mittel	0	0	0
1 „ Bouillon		3 989	> 50 000	
1 „ Bouillonaufschwemmung vom Alkoholextrakt des Serums		6 932	> 10 000	Vermehrung
1 „ Bouillonextrakt vom Alkoholniederschlag des Serums		0	0	0
1 „ Bouillonaufschwemmung vom Alkoholextrakt der Leukocyten		11 002	> 25 000	Vermehrung
1 „ Bouillonextrakt vom Alkoholniederschlag des Leukocytenextraktes		0	0	0

Tabelle II.

Serum und 1,5 g Leukocyten vom Meerschweinchen. Behandlung wie früher.
Einsaat: Proteus mirabilis.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 10 Std.	Nach 20 Std.
1 ccm Meerschweinchenserum	Etwa 8400	> 20 000	Vermehrung	Vermehrung
1 „ Bouillon		> 20 000	„	„
1 „ Bouillonaufschwemmung vom Alkoholextrakt des Serums		> 20 000	„	„
1 „ Bouillonextrakt vom Alkoholniederschlag des Serums		> 20 000	„	„
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		14	4	0
1 „ Bouillonaufschwemmung vom Alkoholextrakt der Leukocyten		> 20 000	Vermehrung	Vermehrung
1 „ Bouillonextrakt vom Alkoholniederschlag des Leukocytenextraktes		75	2	0

Tabelle III.

1,5 g Leukocyten aus einem sterilen Exsudate des Kniegelenkes beim Menschen. Behandlung wie früher. Einsaat: Bacillus anthracis.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 7 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Bouillon	Etwa 1500	24 804	Vermehrung
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		16	0
1 „ Bouillonaufschwemmung vom Alkoholextrakt der Leukocyten		20 988	Vermehrung
1 „ desgl., erhitzt $^{1}/_{2}$ Stunde bei + 56°		> 20 000	„
1 „ Bouillonextrakt vom Alkoholniederschlag des Leukocytenextraktes		44	2
1 „ desgl., erhitzt $^{1}/_{2}$ Stunde bei 56°		6	0

in Bouillon aufgeschwemmt. Der getrocknete, alkoholunlösliche Bodensatz wurde auch mit Bouillon behandelt und nach etwa 2-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Das Serum wurde in derselben Weise behandelt.

Auch mit dem Gemisch von gleichem Volumen Alkohol und Aether wurden ähnliche Versuche angestellt.

Tabelle IV.

1,5 g Kaninchenleukocyten wurden gefroren und sodann nach der oben angegebenen Methode mit Alkoholäther behandelt. Mit 3 ccm Kaninchenserum wurde in derselben Weise verfahren. Einsaat: Proteus mirabilis.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 12 Std.
1 ccm Kaninchenserum	Etwa 2500	0
1 „ Bouillon		> 25 000
1 „ Bouillonaufschwemmung vom Alkohol-Aetherextrakt des Serums		> 25 000
1 „ desgl., erhitzt $^{1}/_{2}$ Stunde bei 56°		6 804
1 „ Bouillonextrakt der Alkohol-Aetherfällung des Serums		0
1 „ desgl., erhitzt $^{1}/_{2}$ Stunde bei 56°		0
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		0
1 „ Bouillonaufschwemmung vom Alkohol-Aetherextrakt der Leukocyten		3 624
1 „ desgl., erhitzt $^{1}/_{2}$ Stunde bei 56°		1 108
1 „ Bouillonextrakt des Rückstandes nach der Alkohol-Aether-behandlung		0
1 „ desgl., erhitzt $^{1}/_{2}$ Stunde bei 56°		0

Die bakteriziden Stoffe der Leukocyten werden ebenso wie die Serumalexine durch Alkohol und Alkoholäther ausgefällt. Doch kommt es besonders bei Behandlung mit Alkoholäther bisweilen vor, daß das Extrakt sowohl von dem Serum als von den Leukocyten hemmende oder sogar schwache keimtötende Wirkung entfaltet. Bemerkenswert ist, daß diese Wirkung, wie die Tabelle zeigt, besonders im erhitzten Extrakte hervortritt. Die Natur dieser bakteriziden Substanzen wird demnächst untersucht werden. Bakterizid wirkende, alkohollösliche Substanzen sind schon von Landsteiner und Ehrlich (10) und Noguchi (11) studiert. Versuche wurden auch angestellt, die wirksamen Stoffe der Leukocyten mit Aceton auszufällen, mußten aber aufgegeben werden, da genügend reines Aceton nicht zu erhalten war.

Diese Uebereinstimmung mit den Serumbakteriolysinen in Bezug auf die Löslichkeit in Alkohol und Alkoholäther ließ vermuten, daß die

Endolysine komplexe Körper sind. In der Tat gelingt es auch öfters ohne Schwierigkeit, die durch Erhitzen inaktivierten Leukocytenextrakte durch Zusatz kleiner Mengen nativen Extrakts zu reaktivieren.

Tabelle V.

Extrakt normaler Kaninchenleukocyten. Die Menge der Leukocyten pro Kubikcentimeter betrug 0,6 g. Das zu reaktivierende Leukocytenextrakt war durch Erhitzen $^1/_2$ Stunde bei + 65° C inaktiviert worden. Einsaat: Bacillus anthracis.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 18 Std.
1,0 ccm Bouillon	Etwa 325	1652	> 25 000
0,8 „ „ + 0,2 ccm akt. Leukocytenextrakt		2266	> 25 000
0,9 „ „ + 0,1 „ „ „		1576	> 25 000
1,0 „ Leukocytenextrakt		0	0
1,0 „ inakt. Leukocytenextr.		976	> 25 000
0,8 „ „ „ + 0,2 ccm akt. Leukocytenextr.		0	0
0,9 „ „ „ + 0,1 „ „ „		1	0

Der Nachweis vom Immunkörper gelingt auch mit der Bordet-Gengouschen Absorptionsmethode. So konnte ich mit bei 65° C inaktiviertem Extrakt auf normale Hundeleukocyten und getöteten Milzbrandbacillen das hämolytische Komplement aus Kaninchenserum vollständig absorbieren. Die zwei übrigen Glieder des hämolytischen Systems waren inaktiviertes Bovo-Kaninchenserum und Rinderblutkörperchen. Man muß aber zum Extrakt große Mengen Leukocyten nehmen, denn sie sind offenbar nicht sehr reich an Ambozeptoren.

Die bakteriziden Leukocytenstoffe sind komplexe Körper wie die Serumbakteriolysine. Mit den von Tarassèwitsch, Korschun und Morgenroth u. A. studierten hämolytischen Toxolecithiden der Organextrakte sind sie ebensowenig analog wie mit den von Levaditi (6) und Wölfel (12) im normalen Serum entdeckten koktostabilen hämolytischen Substanzen. Dagegen besteht eine deutliche Uebereinstimmung zwischen den bakteriziden Leukocytenstoffen und der Buchnerschen Zymase, nicht nur in Bezug auf die Fällbarkeit durch Alkohol und Alkoholäther, sondern auch darin, daß die erhitzten Leukocytenstoffe reaktiviert werden können. Zusatz von erhitztem, unwirksamem Preßsaft zu gewöhnlichen solchen beförderte nämlich auch deutlich die Alkoholgärung, was zu der Annahme von sogenanntem Koenzym Veranlassung gegeben hat. Die Erscheinung scheint große Aehnlichkeit mit der Reaktivierung von Sera, Leukocytenextrakten und anderen Substanzen zu haben. Die bakteriziden Leukocytenstoffe dürften mit gleich großem Recht zu den Enzymen gerechnet werden wie die Hämolysine und Serumbakteriolysine.

Schattenfroh (2) hat die Aufmerksamkeit auf die große Thermostabilität der keimfeindlichen Substanzen der Leukocyten gelenkt. Diese Eigenschaft ist darauf besonders von mir als ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal zwischen den Endolysinen und dem Serumbakteriolysinen hervorgehoben worden. Metschnikoff (7) spricht aber der höheren Widerstandsfähigkeit der Leukocytenstoffe gegen Erhitzen alle Bedeutung in der genannten Hinsicht ab. Er glaube den Unterschied durch die ungleiche Zusammensetzung der Lösungsflüssigkeiten erklären zu können. Ihre Bedeutung für die Thermostabilität ist gewiß nicht zu verneinen,

trotzdem kann ich aber der Erklärung von Metschnikoff nicht beitreten. Sie ist schon deshalb unwahrscheinlich, weil es bakterizide Substanzen der Leukocyten gibt, deren Wirkung bei derselben Temperatur aufgehoben wird, wie die der Serumbakteriolysine. So wird die Wirkung sowohl vom Extrakte der Leukocyten als vom Serum des Huhns auf Staphylococcus aureus durch halbstündiges Erhitzen bei + 56° C völlig vernichtet, wie Rohlin in diesem Laboratorium nachgewiesen hat. Wenn man Extrakte der Alkoholniederschläge vom Serum bezw. gewöhnlichem Leukocytenextrakte herstellt, so würde man nach der Metschnikoffschen Meinung erwarten dürfen, daß diese Flüssigkeiten, sofern es die Hitzebeständigkeit angeht, größere Uebereinstimmung zeigen würden als die Ausgangsflüssigkeiten. Der Alkohol zieht gewisse Substanzen aus und die ausgefällten gehen nicht alle wieder in Lösung. Die neuen Lösungen dürften deshalb wahrscheinlich größere Uebereinstimmung zeigen als die ursprünglichen.

Tabelle VI.

Serum und Leukocytenextrakt vom Kaninchen wurden mit Alkohol gefällt. Die getrockeneten Niederschläge wurden mit Bouillon extrahiert.
Einsaat: Proteus mirabilis Stholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 7 Std.	Nach 18 Std.	Nach 40 Std.
1 ccm Kaninchenserum		0	0	
1 „ „ erhitzt 1/2 Std. bei 56°		0	3	
1 „ „ erhitzt 1/2 Std. bei 65°		8013	43 120	
1 „ Bouillonextrakt des Alkoholniederschlages des Serums		0	1 984	720
1 „ desgl. erhitzt 1/2 Std. bei 65°		11	13 737	>20 000
1 „ Leukocytenextrakt		5	0	0
1 „ „ erhitzt 1/2 Std. bei 85°		12	1 856	2 800
1 „ „ erhitzt 1/2 Std. bei 90°		13	1 136	28 429
1 „ Bouillonextrakt des Alkoholniederschlages des Leukocytenextrakts		3	0	0
1 „ desgl. erhitzt 1/2 Std. bei 85°		0	18	62
1 „ desgl. erhitzt 1/2 Std. bei 90°		4	560	1 536

Durch diese Behandlung wird die Widerstandsfähigkeit der beiden Substanzen erhöht. Und zwar ist die der Leukocytenstoffe stärker gestiegen, denn in mehreren Fällen wurde die keimtötende Wirkung auf Proteus auch nicht durch halbstündiges Erhitzen bei 100° aufgehoben. Der Unterschied ist also mindestens ebenso groß wie früher. Werden die Leukocytenstoffe im Serum gelöst, so sinkt freilich ihre Widerstands-

Tabelle VII.

3 g Leukocyten vom Kaninchen wurden nach wiederholtem Einfrieren mit Alkohol behandelt. Der getrocknete Niederschlag wurde mit so viel aktivem Kaninchenserum extrahiert, daß nach dem Zentrifugieren 4 ccm Flüssigkeit erhalten wurde.
Einsaat: Proteus mirabilis.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Kaninchenserum (= KS)	Etwa 4500	0	0
1 „ KS erhitzt 1/2 Std. bei + 60°		0	0
1 „ KS erhitzt 1/2 Std. bei + 65°		11 829	Vermehrung
1 „ Kaninchenserumleukocytenextrakt		0	0
1 „ desgl. erhitzt 1/2 Std. bei 60°		0	0
1 „ desgl. erhitzt 1/2 Std. bei 65°		0	0
1 „ desgl. erhitzt 1/2 Std. bei 70°		0	0

fähigkeit gegen Erhitzen, immerhin ist sie aber größer als die der Serumbakteriolysine.

In einem bei 75° erhitzten Leukocytenextrakte trat geringe Vermehrung auf. Das Extrakt war aber fest geronnen und das Gerinnsel mußte vor der Einsaat nach Zusatz kleiner Menge Kochsalzlösung zerteilt werden. Unter solchen Umständen kann diese Vermehrung nicht als Beweis angesehen werden, daß die Leukocytenstoffe bei dieser Temperatur wirklich inaktiviert worden sind. Auch nach dem Erhitzem bei 70° war das Serumleukocytenextrakt äußerst dickflüssig. Es besteht also, auch wenn die Leukocytenstoffe im Serum aufgelöst werden, ein bedeutender Unterschied zwischen diesen und den keimtötenden Substanzen des Serums. Die Serumalexine zeigen geringere Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen nicht, weil ihr Lösungsmittel das Serum ist, sondern weil sie andere Stoffe sind, als die in den Leukocyten vorkommenden.

Ein allgemeingültiges Unterscheidungsmerkmal zwischen den bakteriolytischen Substanzen des Serums und den der Leukocyten ist bis jetzt noch nicht entdeckt worden. Alle bisher angeführten, gelten nur für bestimmte Fälle. Es ist deshalb wünschenswert, neue Unterschiede zwischen den beiden Stoffen zu erfinden. Bekanntlich ist es gelungen, durch Filtrieren von Sera durch gewisse Filtra, teils verschiedene hämolytische Komplemente unter sich, teils hämolytische Substanzen von bakteriziden solchen zu trennen. Ehrlich und Morgenroth (8) gelang die Trennung zweier hämolytischen Komplemente des Ziegenserums durch Filtrieren durch Pukall-Filtrum. Pirenne (9) filtrierte Rattenserum durch die Chamberlandsche Kerze F und fand, daß das Filtrat gleich große bakterizide Wirkung besaß als das Serum. Dagegen hatte es die Fähigkeit verloren, mit hämolytischen Ambozeptoren beladene Blutkörperchen zu lösen.

Alle Versuche, die Endolysine von den bakterienfeindlichen Substanzen des Serums mittelst Filtration durch Berkefeldsche und Chamberlandsche Kerzen zu scheiden, scheiterten. Entweder gingen beide durch, oder auch wurden beide zurückgehalten. Dagegen erwies sich das Pukallsche Filtrum zu diesem Zwecke brauchbar, da es wenigstens die auf einige Bakterien wirkenden Serumbakteriolysine durchließ, während die Endolysine in allen untersuchten Fällen zurückgehalten wurden.

Tabelle VIII.

Serum und Extrakt auf Leukocyten vom Kaninchen. Ein Teil sowohl des Serums als des Leukocytenextraktes wurden durch neue Pukallsche Filtra filtriert. Das Filtrat wurde aufgeholt sobald 4—5 ccm durgegangen waren.
Einsaat: Proteus mirabilis Sthlm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 24 Std.
1 ccm Kaninchenserum	Etwa 5200	4	0
1 „ „ filtriert		30	16
1 „ Leukocytenextrakt		0	0
1 „ „ filtriert		7377	> 50 000

Auf Proteus Zenckeri war die Wirkung ganz analog. Gegen Milzbrandbacillen erwies sich auch das Filtrat des Serums wirkungslos.

Die Wirkung des Serums ist durch die Passage durch das Filtrum kaum geschwächt worden, während die des Leukocytenextraktes gänzlich aufgehoben ist. Es soll auch bemerkt werden, daß das Leukocytenextrakt äußerst leicht das Filtrum passierte. Es ist ja auch bedeutend ärmer an

Tabelle IX.

Serum und Leukocyten vom Kaninchen. Von den letzteren wurde in gewöhnlicher Weise Extrakt mit Kochsalzlösung hergestellt und dieses mit der 20-fachen Menge Alkohol behandelt. Der getrocknete Niederschlag wurde sodann mit Bouillon extrahiert und ganz klar zentrifugiert. Sowohl vom Serum als diesem Extrakte wurde die zum Versuche nötige Menge durch Pukallsche Filtrum filtriert. Die Filtra waren nicht früher benutzt worden.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 24 Std.
Einsaat: Proteus mirabilis			
1 ccm Kaninchenserum	Etwa 4000	0	0
1 „ „ filtriert		60	0
1 „ Leukocytenextrakt		0	0
1 „ „ filtriert		8 586	> 25 000
Einsaat: Proteus Zenkeri			
1 ccm Kaninchenserum	Etwa 10 000	0	0
1 „ „ filtriert		648	0
1 „ Leukocytenextrakt		0	0
1 „ „ filtriert		> 20 000	> 50 000

Eiweiß als das Serum. Daß die keimfeindlichen Substanzen der Leukocyten unter solchen Umständen vom Filtrum vollständig zurückgehalten werden, während die des Serums durchgehen, deutet auf verschiedene Beschaffenheit der beiden Stoffe hin.

Kaum in einem einzigen Falle habe ich Leukocytenstoffe angetroffen, die mit den Serumalexinen völlige Uebereinstimmung zeigten. Meistens waren die Unterschiede sogar sehr groß.

Aus der vorstehenden Untersuchung gehen folgende Ergebnisse hervor:

Die Endolysine werden, wie die Serumbakteriolysine und andere Enzyme durch Alkohol und Alkoholäther aus ihren Lösungen ausgefällt.

Die Endolysine sind komplexe Körper.

Die größere Widerstandsfähigkeit der bakteriziden Leukocytenstoffe kommt nicht auf die dem Serum ungleiche Lösungsflüssigkeit an, sondern ist eine charakteristische Eigenschaft gewisser Endolysine.

Gewisse Endolysine unterscheiden sich von den entsprechenden Serumalexinen dadurch, daß sie vom Pukallschen Filtrum zurückgehalten werden, während die letzteren durchgehen.

Literatur.

1) Hahn, M., Arch. f. Hyg. Bd. XXV.
2) Schattenfroh, A., Arch. f. Hyg. Bd. XXXI u. XXXV.
3) Pettersson, A., Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. LXIII. — Dieses Centralb. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV.
4) Denys et Leclef, La Cellule. 1895.
5) Korschun und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1902.
6) Levaditi, C., Ann. Past. 1903.
7) Metschnikoff, E., Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse. XI. Jahrgang.
8) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1900.
9) Pirenne, Dieses Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI.
10) Landsteiner und Ehrlich, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV.
11) Noguchi, Biochem. Zeitschr. Bd. VI.
12) Wölfel, Journ. of Infect. diseas. 1905.

Ueber Cytolyse verstärkende Wirkung präzipitierender Sera.

[Aus dem Kgl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geh. Med.-Rat. Prof. R. Pfeiffer).]

Von

Prof. Dr. **E. Friedberger** und Dr. **C. Bezzola,**
I. Assistenten am Institut. Assistent am Institut für spez. Pathol. (Prof. Devoto) Pavia, z. Z. Königsberg.

Vor kurzem haben Friedberger und Moreschi über eine eigentümliche bis dahin unbekannte Wirkung präzipitierender Sera berichtet. Sie sahen, daß Blutkörperchen, beladen mit Ambozeptoren derjenigen Tierspecies, welche zur Erzeugung des präzipitierenden Serums gedient hatten, bedeutend schneller bei Gegenwart des präzipitierenden Serums hämolysiert wurden als Kontrollproben, in denen das präzipitierende Serum fehlte oder an seiner Stelle normales Serum verwendet worden war. Zu gleicher Zeit hat Moreschi den Einfluß präzipitierender Sera auf die Blutkörperagglutination näher untersucht und in analoger Weise gefunden, „daß Erythrocyten, die mit einer an sich nicht agglutinierenden Dosis des entsprechenden Immunserums beladen werden, beim Hinzutritt kleiner Mengen von präzipitierendem Serum außerordentlich schnell und stark verklumpen, wenn man als Antieiweißserum ein für die Tierspecies präzipitierendes Serum benutzt, welche der Ambozeptor geliefert hat“.

Wir haben nun die Versuche über die Einwirkung präzipitierender Sera auf Cytolyse fortgesetzt, während Moreschi die Erscheinungen bei der Agglutination weiterhin näher studiert hat.

In den Versuchen von Friedberger und Moreschi wurde stets der Einfluß der präzipitierenden Sera auf Blutkörperchen untersucht, die mit der minimalen lösenden Ambozeptordosis in Kontakt waren. Hier tritt als einzig bemerkenswertes Phänomen eben jene Beschleunigung der Hämolyse auf, die in der Regel eine recht beträchtliche ist, so daß nach 5 Minuten häufig schon die komplette Hämolyse eingetreten ist, während in Kontrollversuchen sich dieselbe 2 Stunden und mehr hinzieht.

Als wir nun analoge Versuche anstellten unter Verwendung von Bruchteilen einer Ambozeptoreinheit, da fanden wir, daß nicht nur jene Beschleunigung, die Friedberger und Moreschi beobachtet hatten, sondern auch eine bedeutende Verstärkung der Hämolyse eintrat, derart, daß selbst noch Dosen unter $^1/_{10}$ der Ambozeptoreinheit eine Hämolyse bewirkten. Die Beschleunigung bei Verwendung größerer Ambozeptordosen ist unter diesen Umständen auch nur als der Ausdruck der Verstärkung der Hämolyse anzusehen.

Wir verwandten zu diesen Versuchen zunächst das auch in der früheren Arbeit benutzte Serum einer Ziege, die mit Kaninchenblut behandelt war („Ziege IV“), und als verstärkende Sera die von Kaninchen, welche mit Ziegeneiweiß vorbehandelt waren. Dies sind die in nachstehenden Tabellen aufgeführten Kaninchensera 107, 108, 109, 765. Da es sich hier also bei dem verstärkenden Serum um ein Isoserum handelt (Kaninchen), so kann die Verstärkung unmöglich auf das Konto von normalen Hämolysinen in dem zugesetzten präzipitierenden Serum be-

zogen werden. Zudem wurde auch stets in Kontrollversuchen festgestellt, daß die präzipitierenden Sera allein keine Hämolyse bei Komplementzusatz bewirkten.

Soweit es nicht ausdrücklich in den einzelnen Versuchsprotokollen anders bemerkt ist, haben wir zu unseren Versuchen mit Ambozeptoren (Ziegenserum) beladene Blutkörperchen benutzt, die nach Beladung bei 37 ° einmal sorgfältig gewaschen waren; dann wurde der Bodensatz der Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit dem für Ziegeneiweiß präzipitierenden Kaninchenserum versetzt. Nach weiterem 1—2-stündigen Aufenthalt der Röhrchen bei 37 ° wurde zentrifugiert, der Bodensatz nach sorgfältiger Waschung in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 0,1 Meerschweinchenserum als Komplement versetzt. Die Kontrollprobe wurde genau so behandelt, nur wurde das präzipitierende Serum weggelassen oder an seiner Stelle normales Kaninchenserum verwandt. Ein derartiger Versuch ist in der folgenden Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Hämolyse von Kaninchenblut durch das Serum einer mit Kaninchenblut vorbehandelten Ziege (Ziege IV) verstärkt durch das Serum eines Kaninchen, das mit Ziegenserum vorbehandelt waren (Ser. 109).

Die Kaninchenblutkörperchen in 5-proz. Aufschwemmung 3mal gewaschen, wurden 1 Stunde bei 37 ° mit fallenden Dosen von Serum IV beladen. Danach zentrifugiert; Bodensatz 1mal gewaschen und in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Zusatz des verstärkenden Serums resp. Normalkaninchenserums zu je 1 ccm der beladenen Blutkörperchen. 2 Stunden bei 37 °, zentrifugiert, 1mal gewaschen; Bodensätze in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Zusatz von je 0,1 Normalmeerschweinchenserum als Komplement. Resultate der Hämolyse nach 3 Stunden bei 15 °.

1 ccm gewasch. Kaninchenblutkörperchen in 5-proz. Aufschwemmung, beladen mit Serum Ziege IV	Serum 109 0,01	Normalkaninchenserum 0,01	Kontrolle ohne Kaninchenserum
0,01	komplett	komplett	komplett
0,008	„	fast komplett	fast komplett
0,006	„	Spur	Spur
0,004	Spur	0	0
0,002	„	0	0
0,001	0	0	0
0,0008	0	0	0
0,0006	0	0	0
0,0004	0	0	0
0,0002	0	0	0

Die Röhrchen zeigten nach Zusatz des präzipitierenden Serums sämtlich starke Agglutination, wie sie bereits von Moreschi näher studiert war, während dem Ambozeptorserum an sich agglutinierende Fähigkeit nur in minimalem Grade zukommt. Es lag nahe, einen Zusammenhang zwischen Agglutination und dem Phänomen der Hämolysebeschleunigung resp. Verstärkung anzunehmen. Ein derartiger Zusammenhang besteht jedoch nicht; wenn man an Stelle des Serums der mit Kaninchenblut vorbehandelten Ziege das Serum einer mit Rinderblutkörperchen vorbehandelten Ziege („Ziege III") nimmt, so tritt keine Agglutination bei Zusatz des für Ziegeneiweiß präzipitierenden Serums auf, aber eine Verstärkung der Hämolyse in noch viel stärkerem Grade wie bei Verwendung des Kaninchenblut-Ziegenserums. Es läge der Einwand nahe, daß bei der Verwendung von Rinderblutkörperchen die Verstärkung der Hämolyse zum Teil dem artfremden Kaninchenserum (präzipitierendes Serum) zuzuschreiben sei.

Dagegen sprechen jedoch folgende Erwägungen: 1) Normales Kaninchenserum und alle von uns verwandten präzipitierenden Kaninchensera wirken erst in vielfachen Multiplis derjenigen Menge, die bei uns zur Verstärkung nötig war, hämolytisch. 2) Es besteht in weiten Grenzen keine Abhängigkeit der hämolytischen Verstärkung von der Dosis des zugefügten präzipitierenden Kaninchenserums. Ein Versuch mit dem Serum der Ochsenblutziege ist in der folgenden Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Hämolyse von Rinderblut durch das Serum einer mit Rinderblut vorbehandelten Ziege (Ziege III), verstärkt durch das Serum von Kaninchen, die mit Ziegenserum vorbehandelt waren (Ser. 107 und 108). Versuchsanordnung genau wie in Tabelle I. Resultat der Hämolyse nach 1 Stunde bei 37°.

1 ccm Rinderblutkörperchen beladene mit Serum Ziege III	Serum 107 0,05	Serum 107 0,005	Serum 108 0,05	Serum 108 0,005	Kontrolle ohne Kan.-Ser. resp. mit 0,05 Norm.-Kan.-Serum
0,005	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,001	„	„	„	„	0
0,0005	„	fast komplett	„	min. Hauch	0
0,0001	„	0	„	0	0
0,00005	trüb	0	„	0	0
0,00001	0	0	trüb	0	0
0,000005	0	0	„	0	0
0,000001	0	0	„	0	0

Es scheint sich bei dieser Verstärkung der Hämolyse ausschließlich um eine Verstärkung der Ambozeptorwirkung zu handeln, derart, daß eine im gewöhnlichen lytischen Versuch unterlösliche Dosis durch Zusatz des dem Ambozeptorserum entsprechend präzipitierenden Serums zur löslichen wird.

Eine verstärkende Wirkung auf das Komplement im gleichen Sinne konnten wir in unseren Versuchen nicht mit Sicherheit konstatieren. Wenn es sich hier um einen Einfluß des präzipitierenden Serums auf das Komplement handeln würde, so müßte eine Hämolyse auch mit subminimalen Komplementdosen erfolgen. Zur Entscheidung dieser Frage wurde der folgende Versuch angestellt:

Es wurden gewaschene Ochsenblutkörperchen mit einer großen Menge von Ambozeptorserum versetzt (ca. 30 lösende Einheiten pro Kubikcentimeter) und zunächst diejenige minimale Menge von Komplement bestimmt, welche zur kompletten Lösung ausreichte. Bei der starken Beladung der Blutkörperchen genügte zu diesem Zwecke noch 5 mg Meerschweinchenserum (s. Tabelle III).

Tabelle III.

Rinderblutkörperchen 5-proz. Aufschw. beladen pro Kubikcentimeter mit 0,1 Ser. Ziege III zentrifugiert; gewaschener Bodensatz in je 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt	Komplement	Resultat der Hämolyse nach 1 Std. 30 Min. bei 37°
1 ccm	0,05	komplett
1 „	0,01	„
1 „	0,005	„
1 „	0,001	0
1 „	0,0005	0

Nachdem auf diese Weise der Titer des Komplementes bestimmt war, wurden sogleich in einer Versuchsreihe, die in gleicher Weise wie vorher beladenen Blutkörperchen nach einmaliger Waschung mit fallenden Mengen eines Antiziegen-Eiweißserums versetzt und 2 Stunden damit in Kontakt gelassen, danach wurde zentrifugiert, gewaschen, der Bodensatz in physiologischer Kochsalzlösung wieder aufgeschwemmt und mit einer subminimalen Komplementdosis versetzt.

Tabelle IV.

Rinderblutkörperchen, beladen, wie in Tabelle III	Serum 109	Komplement	Resultat der Hämolyse nach 1 Std. 30 Min. bei 27°
1 ccm	0,05	0,001	0
1 „	0,01	0,001	0
1 „	0,005	0,001	0
1 „	0,001	0,001	0
	Kontrollen		
1 ccm	—	0,001	0
1 „	—	0,005	komplett
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt			

Wie sich aus der Tabelle IV ergibt, trat keinerlei Verstärkung der Hämolyse ein. Während also das präzipitierende Serum die Ambozeptorwirkung des Ziegenserums III um mehr als das 10-fache zu steigern im stande ist, ist ein Einfluß auf das Komplement in nennenswertem Grade nicht zu verzeichnen. Dafür spricht auch noch der folgende Versuch:

Die Ochsenblutkörperchen wurden diesmal mit einer bedeutend geringeren Menge von Ziegenimmunserum beladen und in gleicher Weise wie vorher der Komplementtiter bestimmt, der diesmal 10mal höher lag. Siehe den Vorversuch in der folgenden Tabelle V.

Tabelle V.

Rinderblutkörperchen, beladenen, wie in Tabelle III, nur mit 0,005 Serum Ziege III	Komplement	Resultat der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°
1 ccm	0,1	komplett
1 „	0,05	„
1 „	0,01	trüb
1 „	0,005	0
1 „	0,001	0
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt		

Zu dem eigentlichen Versuch wurden nun die Blutkörperchen mit einer noch geringeren gerade subminimalen Ambozeptordosis beladen, Versuchsanordnung im übrigen wie vorher. Als Komplementdosis wurde die für 5 mg Ambozeptor ausreichende Minimaldosis benutzt (0,05) (Tabelle VI A) und in einer weiteren Reihe 0,03 (Tabelle VI B).

Diese Tabelle zeigt wiederum unzweideutig, daß von einer verstärkten Wirkung auf das Komplement nicht die Rede sein kann.

Sofern man vor dem Zusatz des Komplementes sorgfältig wäscht, ist die Reihenfolge der Vermischung der einzelnen Komponenten für das Phänomen der hämolytischen Verstärkung vollständig irrelevant. Im wesentlichen ist der Effekt der gleiche, ob man nun die von uns gewöhnlich benutzte Versuchsanwendung einhält, d. h. zu den beladenen und gewaschenen Blutkörperchen das verstärkende Serum hinzusetzt

Tabelle VI.

	Blutkörperchen, beladen wie in voriger Tabelle, jedoch nur mit 0,001 Serum Ziege III	Serum 109	Komplement	Resultat der Hämolyse nach 2 Std. bei 37°
A	1 ccm	0,01	0,05	komplett
	1 „	0,005	0,05	trüb
	1 „	0,001	0,05	Kuppe
	1 „	0,0005	0,05	0
	1 „	0,0001	0,05	0
		Kontrolle		
	1 ccm	—	0,05	0
B	1 „	0,01	0,03	0
	1 „	0,005	0,03	0
	1 „	0,001	0,03	0
	1 „	0,0005	0,03	0
	1 „	0,0001	0,03	0
		Kontrolle		
	1 ccm	—	0,03	0
	Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt, dann 2 Std. bei 37°, zentrifugiert, gewaschen, Bodensatz in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Komplement Zusatz			

(Tabelle VII C), 2 Stunden in Kontakt läßt, wäscht, das Komplement hinzufügt, oder ob man zuerst hämolytisches Serum und beschleunigendes Serum in Kontakt läßt (Tabelle VII A), dann die Blutkörperchen hinzufügt, nach einiger Zeit zentrifugiert und wäscht und das Komplement hinzusetzt, oder endlich ob man Blutkörperchen, hämolytisches Serum und beschleunigendes Serum alle drei eine Zeit lang zuzammenläßt (Tabelle VII B) und dann vor Hinzufügen des Komplementes zentrifugiert und wäscht.

Die folgende Tabelle No. VII zeigt 3 derartige, gleichzeitig angestellte Versuche.

Das Phänomen der hämolytischen Verstärkung (Tabelle VIII A) bleibt aber sofort aus bei Verwendung subminimaler Ambozeptordosen, einerlei, wie die einzelnen Komponenten miteinander gemischt sind und in welcher Reihenfolge, wenn an Stelle beladener Blutkörperchen das gesamte hämolytische Serum zugegen ist, d. h. wenn nicht vor Zusatz des Komplementes der Ueberschuß des Ziegenserums und der Zwischenflüssigkeit durch Abzentrifugieren entfernt ist (Tabelle VIII B). Wenn man dagegen mehr von Ambozeptoren als die gerade lösende Dosis verwendet, so tritt wieder die Hämolyse in Erscheinung (Tabelle VIII C).

Eine derartige Versuchsreihe zeigt die folgende Tabelle VIII.

Entsprechende Resultate, wie sie in Tabelle VIII niedergelegt sind, wurden bei Verwendung des Serums einer mit Kaninchenblut vorbehandelten Ziege und Kaninchenblutkörperchen an Stelle der mit Ochsenblut vorbehandelten und Ochsenblutkörperchen erzielt.

Wie bereits Friedberger und Moreschi für das Beschleunigungsphänomen festgestellt haben und wie sich aus dem Ausfall unserer Versuche ohne weiteres ergibt, vermögen die beladenen Blutkörperchen die verstärkende Substanz zu absorbieren.

Nach unseren jetzigen Versuchen steht die Absorptionsfähigkeit der beladenen Blutkörperchen für die verstärkende Substanz in direkter Beziehung zur Stärke der Beladung, derart, daß mit reichlichen Mengen

Tabelle VII.

	Serum Ziege III	Serum 109	Rinderblutkörperchen, 5-proz.	Komplement	Resultat der Hämolyse nach 30 Min. bei 37°
A	0,001	0,01	1 ccm	0,1	komplett
	0,001	0,005	1 „	0,1	fast komplett
	0,001	0,001	1 „	0,1	0
	0,001	0,0005	1 „	0,1	0
	0,001	0,0001	1 „	0,1	0
	0,001	0,00005	1 „	0,1	0
	3 Std. bei 15° in Kontakt, danach Zusatz der Rinderblutkörperchen; die Mischung bleibt 2½ Std. bei 37°, dann wird zentrifugiert, gewaschen mit physiologischer Kochsalzlösung au 2 ccm aufgefüllt				
B	0,001	0,01	1 ccm	0,1	komplett
	0,001	0,005	1 „	0,1	fast komplett
	0,001	0,001	1 „	0,1	0
	0,001	0,0005	1 „	0,1	0
	0,001	0,0001	1 „	0,1	0
	0,001	0,00005	1 „	0,1	0
	2½ Std. bei 37°, dann zentrifugiert und gewaschen. Bodensatz mit Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt; Zusatz des Komplementes				
	Rinderblutkörperchen, beladene, mit 0,001 Serum Ziege III pro Kubikcentimeter				
C	1 ccm	0,01		0,1	komplett
	1 „	0,005		0,1	fast komplett
	1 „	0,001		0,1	0
	1 „	0,0005		0,1	0
	1 „	0,0001		0,1	0
	1 „	0,00005		0,1	0
	Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt				

von Ambozeptoren beladene Blutkörperchen mehr von der verstärkenden Substanz absorbieren als weniger beladene; unbeladene absorbieren, wie bereits Friedberger und Moreschi gefunden haben, nichts. Der

Tabelle VIII.

	Rinderblutkörperchen mit 0,001 Serum Ziege III pro Kubikcentimeter beladen	Serum 109	Komplement	Resultat der Hämolyse nach 30 Min. bei 37° und 1 Std. bei 15°
A	1 ccm	0,01	0,1	komplett
	1 „	0,005	0,1	„
	1 „	0,001	0,1	„
	1 „	0,0005	0,1	„
	1 „	0,0001	0,1	0
		Kontrolle		
	1 ccm	—	0,1	0
	Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt. Dann 2 Std. bei 37° gelassen; zentrifugiert, gewaschen, Bodensatz in je 2 ccm Kochsalzlösung. Komplementzusatz.			

Gewaschene Rinderblutkörperchen, 5-proz. Aufschwemmung		Serum Ziege III	Serum 109	Komplement	Resultat der Hämolyse nach 30 Min. bei 37° und 1 Std. bei 16°
B	1 ccm	0,001	0,01	0,1	0
	1 „	0,001	0,005	0,1	0
	1 „	0,001	0,001	0,1	0
	1 „	0,001	0,0005	0,1	0
	1 „	0,001	0,0001	0,1	0
			Kontrolle		
	1 ccm	0,001	—	0,1	0
C	1 ccm	0,005	0,01	0,1	komplett
	1 „	0,005	0,005	0,1	„
	1 „	0,005	0,001	0,1	„
	1 „	0,005	0,0005	0,1	„
	1 „	0,005	0,0001	0,1	„
			Kontrolle		
	1 ccm	0,005	—	0,1	komplett

Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt, 2 Std. bei 37°, dann Komplementzusatz.

Tabelle IX.

A. 10 ccm Rinderblutkörperchen (5-proz. Aufschwemmung) werden mit 1 ccm des Serums der Ziege III (mit Rinderblut vorbehandelt) 1 Stunde bei 37° in Kontakt gelassen. Danach wird zentrifugiert, Flüssigkeit abgegossen, Bodensatz gewaschen, mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt. Zusatz von 0,1 ccm Kaninchenserum 109 (Kaninchen mit Ziegenserum behandelt). Die Mischung bleibt 2 Stunden bei 37° stehen; danach wird zentrifugiert, Flüssigkeit abgegossen. Der Abguß, der auf seine Hämolyse verstärkende Fähigkeit geprüft wird, ist in der folgenden Tabelle mit A bezeichnet.

B. Versuchsanordnung wie bei A, nur sind die Blutkörperchen anstatt mit 1 ccm mit 0,01 ccm desselben Serums beladen. Der Abguß, der wiederum auf seine Hämolyse verstärkende Kraft geprüft wird, ist in der Tabelle mit B bezeichnet.

C. Rinderblutkörperchen ohne Zusatz des Serums Ziege III (sonst wie vorher behandelt). Danach Zusatz von 0,1 Serum 109. Die Mischung bleibt 2 Stunden bei 37° stehen. Danach wird zentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen; der Abguß wird auf seine verstärkende Kraft geprüft. In der folgenden Tabelle mit C bezeichnet.

D. 10 ccm physiologische Kochsalzlösung werden mit 0,1 Serum 109 versetzt. Die Flüssigkeit wird gleichfalls auf ihre verstärkende Kraft geprüft. In der folgenden Tabelle mit D bezeichnet.

Beladene Rinderblutkörperchen mit 0,001 Ser. Ziege III pro Kubikcentimeter	Mengen der einzelnen Abgüsse	A	B	C	D
		Resultat der Hämolyse nach 30 Min. bei 37° und 30 Min. bei 16°			
1 ccm	1,0	komplett	komplett	komplett	komplett
1 „	0,5	„	„	„	„
1 „	0,1	trüb	„	„	„
1 „	0,05	θ	fast komplett	„	„
1 „	0,01	θ	θ	0	0
1 „	0,005	θ	θ	0	0

Kontrolle: 1 ccm mit 0,001 Serum Ziege III beladene Rinderblutkörperchen + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung + 0,1 Komplement. Nach 2 Stunden bei 37° Hämolyse = 0.

negative Ausfall der Versuche auch bei der Verwendung von normalem Ziegenserum dürfte gleichfalls auf eine zu geringe Beladung der Blutkörperchen zurückzuführen sein. Das Resultat eines Versuches, das die Abhängigkeit der Absorption der verstärkenden Substanz von der Ambozeptormenge zeigt, ist in der vorstehenden Tabelle IX dargestellt.

Es schien uns von Interesse, zu sehen, ob das von uns in vitro beobachtete Phänomen auch in vivo in Erscheinung tritt. Wir haben deshalb im Reagenzglas analoge Versuche an Meerschweinchen angestellt, indem wir die Mischung von beladenen Blutkörperchen und verstärkendem Serum unter Hinzuziehung entsprechender Kontrollen Meerschweinchen in die Bauchhöhle spritzten und durch zeitweilige Entnahme des Blutes mit Hilfe von Glaskapillaren nach Art des Vorgehens beim Pfeifferschen Versuch den Grad der Hämolyse feststellten. Anfangs haben wir die abgenommenen Proben mikroskopisch untersucht. Es genügt jedoch, wie wir später fanden, an herausgenommenen Exsudatproben den Grad der Hämolyse makroskopisch festzustellen, wofern man nur etwas weitere Kapillarröhren zur Entnahme benutzt. Die Ablesung läßt sich übrigens bei einer Anwendung dieses Verfahrens nur etwa innerhalb der ersten $^3/_4$ Stunden genau durchführen, da die später eintretende Leukocytose die Beobachtung stört.

Ueber das Resultat zweier derartiger Versuche geben die beiden folgenden Tabellen X und XI Aufschluß, in denen die näheren Angaben über die Versuchsanordnung enthalten sind.

Tabelle X.

A. Gewaschene Kaninchenblutkörperchen (5-proz. Aufschwemmung) werden 1 Stunde bei 37° mit 0,003 Serum Ziege IV pro Kubikcentimeter beladen. Danach wird zentrifugiert, gewaschen, physiologische Kochsalzlösung bis zum ursprünglichen Volumen zugefügt. Von dieser Aufschwemmung beladener Blutkörperchen werden 5 ccm mit 0,05 Serum Kaninchen 109 2 Stunden bei 37° in Kontakt gelassen; danach wird zentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen, der Bodensatz in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt (A).

B. Versuchsanordnung wie unter A, nur wird an Stelle von 0,05 Serum 109 die gleiche Dosis Normalkaninchenserum verwendet (B).

C. Gleiche Versuchsanordnung wie unter B, nur ohne Zusatz von Serum.

D. Versuchsanordnung wie unter C, jedoch die Blutkörperchen nicht mit Ambozeptor beladen.

Die aufgeschwemmten Bodensätze A, B, C, D werden gleichzeitig 4 Meerschweinchen, No. 800—803, von ca. 300 g Gewicht intraperitoneal injiziert.

No. des Tieres	Erhält Aufschwemmung	Resultat der Hämolyse
800	A	komplett nach 15 Minuten
801	B	fast komplett nach 15 Minuten
802	C	0 nach 15 Minuten komplett nach 60 Minuten
803	D	0 nach 60 Minuten

Tabelle XI.

Gewaschene Rinderblutkörperchen werden 1 Stunde lang bei 37° mit 0,001 Serum Ziege III pro Kubikcentimeter beladen. Danach wird zentrifugiert, gewaschen, mit physiologischer Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt.

A. Von dieser Suspension wird 1 ccm mit 0,01 Kaninchenserum No. 765 (mit Ziegenserum behandelt) versetzt. Die Mischung bleibt 2 Stunden bei 37° stehen, wird zentrifugiert, der Bodensatz wird gewaschen und in 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

B. Versuchsbedingungen wie unter A, nur wird an Stelle von Serum 765 Normalkaninchenserum benutzt.

C. Versuchsanordnung wie in B, nur wird an Stelle des Normalkaninchenserums physiologische Kochsalzlösung verwendet.

D. Versuchsanordnung wie in C, nur unter Verwendung gewaschener, nicht beladener Blutkörperchen. Die Aufschwemmungen A, B, C, D werden den Meerschweinchen No. 980, 981, 982, 963 von ca. 250 g Gewicht intraperitoneal eingespritzt.

Die Resultate der Hämolyse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

No. des Tieres	Erhält Aufschwemmung	Resultat der Hämolyse
980	A	komplett nach 10 Minuten
981	B	0 nach 45 Minuten
982	C	0 nach 45 Minuten
963	D	0 nach 45 Minuten

Analoge Versuche, wie sie in den Tabellen X und XI mit Blutkörperchen dargestellt sind, haben wir auch mit beladenen Bakterien (Typhus) angestellt.

Wir verwandten als Immunserum das Serum einer mit Typhusbakterien vorbehandelten Ziege vom Titer 0,01 und als verstärkendes Serum Serum verschiedener mit Ziegenserum vorbehandelter Kaninchen, also die gleichen Komponenten wie bei den hämolytischen Versuchen. Die Bakterien wurden zunächst mit dem Immunserum beladen und zwar um eine Vermehrung möglichst zu verhüten, bei Eisschranktemperatur; dann wurde zentrifugiert, gewaschen, das beschleunigende Serum hinzugefügt, ebenfalls 1—2 Stunden bei Eisschranktemperatur in Kontakt gelassen, dann wurde abermals zentrifugiert, der Bodensatz der Bakterien in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und injiziert. In Kontrollversuchen waren die Bakterien genau so behandelt worden, nur wurde anstatt des beschleunigenden Serums normales Kaninchenserum angewandt.

Bei diesen Versuchen ergaben sich nun keineswegs zunächst so eklatante Resultate wie bei der Hämolyse. Wir sahen zwar bei den mit subminimalen Ambozeptordosen beladenen und nachher mit beschleunigendem Serum behandelten Bakterienaufschwemmungen zu Anfang eine deutliche verstärkte Bakteriolyse gegenüber den Kontrollen, aber schließlich etwa nach 2—3 Stunden begannen die spärlichen übriggebliebenen Bakterien sich zu vermehren, so daß in der Mehrzahl der Fälle schließlich die Tiere, die das beschleunigende Serum erhalten hatten, in gleicher Weise der Infektion erlagen wie die Kontrollen. Es ist ja nicht weiter verwunderlich, daß gegenüber Bakterien das beschleunigende Serum nicht die gleiche intensive Wirkung entfalten kann wie gegenüber Blutkörperchen. Hier haben wir im Reagenzglas einen statischen Prozeß vor uns, ein Konstantbleiben der Dosis der dem lytischen Prozeß zu unterwerfenden Zellen, während wir es dort mit einem dynamischen Vorgang zu tun haben, mit einer unausgesetzten, unkontrolllierbaren Vermehrung der zur Auflösung bestimmten Bakterien. Wir können uns sehr wohl vorstellen, daß in den ersten Stunden im Peritoneum neu erzeugte Individuen namentlich bei einer ausgesprochenen Virulenz der Kultur dem Einfluß des Ambozeptors und des verstärkenden Serums entzogen sind, da ja die Bindung dieser Substanzen vorher im Reagenzglas stattgefunden hat und nur den ursprünglich vorhandenen Bakterien zu gute gekommen ist.

Eine Erklärung für das Wesen der rätselhaften verstärkenden Wirkung der präzipitierenden Sera dürfte sich wohl aus den Versuchen, die in Tabelle VIII und IX niedergelegt sind, ergeben.

Wir sahen in diesen Tabellen, wie ganz verschieden die Wirkung des Serums ist, je nachdem das gesamte Ambozeptorserum vorhanden ist oder nur diejenige Quote, die bereits an die Blutkörperchen verankert ist. Ist nur so viel vom Ziegenserum vorhanden, als in der Gestalt des Ambozeptors an die Blutkörperchen verankert ist und der Rest durch Waschung entfernt, so haben wir eine Beschleunigung, ist der Ueberschuß des Ziegenserums vorhanden, so haben wir eine Hemmung der Hämolyse. Wir dürfen wohl annehmen, daß es sich im letzteren Falle um eine typische Komplementablenkung im Sinne von Gengou-Moreschi handelt, indem das beschleunigende Antieiweißserum mit dem homologen Ambozeptorserum in Kontakt tritt und das Komplement verschluckt. Umgekehrt dürfen wir wohl annehmen, daß im Falle der Beladung der Blutkörperchen und nachherigem Abzentrifugieren des überschüssigen Ziegenserums die geringen mit den Erythrocyten nach der Waschung noch in Kontakt befindlichen und an diesen haftenden Eiweißmengen des Ziegenserums zwar gleichfalls eine Reaktion mit dem Antiziegenserum des Kaninchenserums eingehen, welche eine Affinität zum Komplement besitzt; während aber dort diese Reaktion in der Zwischenflüssigkeit vor sich geht und auf das Komplement ablenkend wirkt, wirkt sie hier, da sie am Blutkörperchen selbst stattfindet, im Gegensatz zulenkend und damit Hämolyse verstärkend. Mit einer Version der bekannten v. Behringschen Erklärung des Wesens der Antitoxinbildung könnten wir die Tatsache so formulieren. Dieselbe Substanz, die, so lange sie an das Blutkörperchen fixiert ist, zulenkend auf das Komplement wirkt und Ursache der verstärkten Hämolyse ist, wirkt ablenkend auf das Komplement und ist damit Ursache der Hämolysehemmung, wenn sie sich in der Zwischenflüssigkeit befindet.

Zur Hämolyse bei den Kaltblütern.

1. Ein echtes Hämotoxin im Serum des Frosches und der Einfluß der Leberexstirpation auf den Giftgehalt des Serums.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. R. Pfeiffer).]

Von

Prof. Dr. **E. Friedberger** und Dr. **A. Seelig,**
I. Assistenten am hygien. Institut. Arzt in Königsberg i. Pr.

Die Versuche, über die im nachstehenden berichtet wird, wurden ausschließlich mit *Rana esculenta* var. *ridibunda,* und zwar in den Wintermonaten, an hungernden Tieren angestellt. Das Normalserum der Frösche besitzt genau wie das höherer Tiere gegenüber artfremden Erythrocyten hämolytische Fähigkeit. Besonders stark wirkt es auf die Blutkörperchen des Kaninchens, des Menschen, weniger auf die des Meerschweinchens und nur im geringen Grade auf die der Ziege. 0,02 Froschserum genügt in der Regel, um innerhalb einer Stunde bei Zimmertemperatur 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung von Erythrocyten der beiden erstgenannten Species zur Auflösung zu bringen. Mit 0,1 ist die Hämolyse in wenigen

Minuten vollendet. Die folgende Tabelle I zeigt einen derartigen Versuch mit Kaninchenblut.

Tabelle I.
Hämolyse des Kaninchenbluts durch Froschserum.

Menge des Froschserums	Menge der 5-proz. Kaninchen-blutaufschwemmung	Resultat
0,08	1 ccm	komplett nach 5 Minuten
0,07	1 „	„ „ 5 „
0,06	1 „	„ „ 10 „
0,05	1 „	„ „ 20 „
0,04	1 „	innerhalb 1 Stunde
0,03	1 „	„ 1 „
0,02	1 „	„ 1 „
0,01	1 „	komplett in 12 Stunden
0,008	1 „	trüb nach 24 Stunden
0,006	1 „	Kuppe
0,004	1 „	„
0,002	1 „	0

Nachdem durch die genialen Untersuchungen Ehrlichs und seiner Schüler die Komplexität der Hämolysine auch des Normalserums für alle darauf untersuchten Tierspecies (eigentlich nur mit Ausnahme des Hämolysins des Aalblutes) aufgedeckt war, lag es nahe, auch beim Froschblut ein aus Ambozeptor und Komplement bestehendes Hämolysin anzunehmen.

Ueber die Hämolyse des Serums der Kaltblüter liegen in der Literatur nur wenige Arbeiten von Noguchi vor, die jedoch über den Charakter des Hämolysins bei den von ihm untersuchten Kaltblüterspezies nur ungenügenden Aufschluß geben. Noguchi studierte die Einwirkung des Blutserums von *Mustelus canis, Cynoscion regalis, Amphiuma means, Rana catesbiana* auf verschiedene Arten von Blutkörperchen und fand ein mehr oder weniger ausgesprochenes hämolytisches Vermögen, das für einige Blutarten bereits durch Erwärmung auf 40°, für andere bei etwas höherer Temperatur beeinträchtigt wurde, bei $^1/_2$-stündigem Erwärmen auf über 50° vollkommen verloren ging. Er nimmt an, daß bei der Erwärmung die Komplemente der Sera zerstört würden, ohne aber genauere Untersuchungen darüber anzustellen, ob hier wirklich ein komplexes Hämolysin vorliegt. Aus dem verschiedenartigen Verhalten der erhitzten Sera bezüglich der lösenden Kraft gegenüber den einzelnen Blutarten schloß er auf eine Vielheit dieser Komplemente im Sinne Ehrlichs. Im Serum von *Limulus polyphemus* fand er kein Lysin, sondern ein Agglutinin wirksam gegen die Erythrocyten vieler Kaltblüterarten, aber ohne lösende Fahigkeit. Er nimmt eine Vielheit und Spezifizität auch dieser Agglutinine zufolge seiner Resultate bei Absorptionsversuchen an. Eine $^1/_2$-stündige Erwärmung auf 40° schwächt, auf 65° zerstört das Agglutinin vollständig.

Bei unseren eigenen Versuchen über die Hämolyse des Kaninchenblutes durch Normalfroschserum versuchten wir zuerst mit den von Ehrlich und seinen Schülern begründeten Methoden, den vermuteten Ambozeptor des Normalfroschserums zu isolieren. Durch $^1/_2$-stündige Erwärmung auf 50° verliert das Froschserum sein hämolytisches Vermögen, aber bereits eine 20 Minuten dauernde Erwärmung auf 45° bewirkt deutliche, auf 48° ausgesprochene Schädigung des Hämolysins.

Wir konnten kein Normalserum ausfindig machen, durch welches das inaktivierte Froschserum sich komplettieren ließ. Es wurden zu dem Zwecke die Normalsera von Meerschweinchen, Kaninchen. Ziege, Hammel, Schwein, Zander, Schleie in Dosen, die an sich keine Lösung hervorriefen, mit dem inaktivierten Normalfroschserum versetzt.

Ausgehend von der Erwägung, daß möglicherweise auch bei der schonendsten Inaktivierung des Froschserums bei der hierzu notwendigen Minimaltemperatur bereits die komplementophile Gruppe des Froschserumambozeptors für Kaninchenblut eine Schädigung erfahren könnte, haben wir dann andere weniger eingreifende der bekannten Methoden zur Trennung von Ambozeptor und Komplement herangezogen. Bekanntlich gelang Ehrlich und Morgenroth bei ihren Studien über Normal- und Immunhämolyse die isolierte Verankerung des Ambozeptors bei niederer Temperatur, bei der das Komplement nicht absorbiert wird, sondern im Abguß zurückbleibt.

Wir hoffen, mit der „Kältetrennungsmethode" vielleicht auch bei unserer Kombination Froschserum-Kaninchenblut zum Ziel zu gelangen. Der Durchführung dieser Versuchsanordnung boten sich zunächst gewisse Schwierigkeiten dadurch, daß im Gegensatz zum Serum der Warmblüter das Serum des Frosches auch bei 0° bereits komplette Hämolyse bewirkt. Immerhin ist hier die Reaktion deutlich verlangsamt, sodaß mit 0,1 Froschserum die komplette Lösung frühestens nach $^3/_4$ Stunden erfolgt, mit der Hälfte dieser Dosis (etwa 3 lösende Dosen bei Zimmertemperatur) sich länger als 12 Stunden hinziehen kann. Mit dieser Dosis von 0,05 wurden nun Kältetrennungsversuche nach einer Zeit angestellt, in der die Lösung noch nicht erfolgt war.

Tabelle II.

Alle Reagentien, Kochsalzlösung, 5-proz. Aufschwemmung des Kaninchenblutes, Froschserum und Entenserum (letzteres für Kontrollversuche) sind auf 0° gekühlt. Es werden folgende Versuchsreihen angesetzt:

a)	1,0	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung,	0° + 0,1	Normalfroschserum	0°
b—d)	je 1,0	5- „ „	0° + 0,05	„	0°
e)	1,0	5- „ „	0° + 0,1	Normalentenserum	0°
f)	1,0	5- „ „	0° + 0,05	„	0°
g)	1,0	5- „ „	0° + 0,1	„	0°
h)	1,0	5- „ „	0° + 0,05	„	0°

Röhrchen a—f) kommen in Eiswasser von 0°, g) und h) bleiben bei Zimmertemperatur.

Resultat: g) ist sehr schnell gelöst, auch h) nach wenigen Minuten, nach 45 Minuten ist a) komplett gelöst, nach 16 Stunden b) fast vollständig; e) und f) zeigen auch nach 16 Stunden keine Lyse. Röhrchen c) (identisch mit b) wird nach 1 Stunde in Eiswasser zentrifugiert, obenstehende Flüssigkeit nur leicht rosa gefärbt. Der Bodensatz der Blutkörper wird in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 0,05 Normalmeerschweinchenserum versetzt. Es tritt keine Hämolyse ein. Röhrchen d) wird nach 12 Stunden zentrifugiert (beginnende Hämolyse, Abguß bereits rot). Der Bodensatz wird wiederum in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 0,05 Normalmeerschweinchenserum versetzt. Keine Hämolyse. Es läßt sich also durch das Kältetrennungsverfahren im Normalfroschserum kein durch Normalmeerschweinchenserum komplettierbarer Ambozeptor nachweisen.

Es wurde dann eine weitere Trennungsmethode für Ambozeptor und Komplement herangezogen. Wie Markl, Ehrlich und Morgenroth zuerst nachwiesen und Hektoen und Rüdiger in ausgedehnten

Versuchsreihen näher studierten, findet auch in hypertonischer Salzlösung eine ausschließliche Verankerung des Ambozeptors statt, während das Komplement in der Zwischenflüssigkeit zurückbleibt.

Tabelle III.

1,0 Normalfroschserum wird mit 1 ccm 10-proz. Kochsalzlösung versetzt, dazu kommen nacheinander: Für 1 Stunde der Bodensatz von 3 resp. 5 ccm gutgewaschener 5-proz. Kaninchenblutkörperaufschwemmung. Die Röhrchen bleiben 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen, keine Hämolyse; darnach wird zentrifugiert. Der Bodensatz der zur ersten Ausfällung benutzten Blutkörperchen wird in 3-proz. Kochsalzlösung gewaschen. Diese wird sorgfältig vom Bodensatz abgegossen und das Sendiment wird in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Zu jedem Kubikcentimeter dieser Aufschwemmung kommt als Komplement je 0,1 Serum von Meerschweinchen, Hammel und Schwein. Keine Hämolyse.

Es ließ sich also auch mit Hilfe dieser Methode kein durch die erwähnten Sera komplettierbarer Ambozeptor im Normalfroschserum nachweisen.

Die abgegossene Flüssigkeit wurde nun durch Zusatz von destilliertem Wasser bis zum Grad der Istonie verdünnt und mit einer anderen Quote desselben Froschserums, die nicht mit konzentrierter Kochsalzlösung vesetzt und nicht mit Blutkörperchen in Kontakt gewesen war, auf den Gehalt an Hämolysin gegenüber Kaninchenblut verglichen.

Tabelle IV.

Menge des ausgefällten resp. nicht behandelten Froschserums	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung	Resultat mit	
		ausgefälltem Serum	nicht ausgefälltem Serum
0,06	1 ccm	komplett	komplett
0,04	1 „	„	„
0,02	1 „	Hauch	„
0,01	1 „	0	fast komplett
0,008	1 „	0	Kuppe

Die Tabelle zeigt, daß das hämolytische Vermögen des ausgefällten Serums nur wenig hinter dem des nicht ausgefällten Teiles zurücksteht. Für die vorhandene Differenz dürfte zudem im wesentlichen die Verdünnung verantwortlicn gemacht werden, die der eine Serumanteil bei der Ausfällung mit Blutkörperchen erfahren hat.

Dafür spricht auch der folgende Versuch, in dem trotz der Ausfällung mit einer bedeutend größerer Menge von Vollblut (aber in geringerem Volum) die Differenz fast ganz verschwand.

Tabelle V.

Versuchsanordnung wie in Tabelle III und IV. Nur erfolgt die Ausfällung statt mit 3 plus 5 ccm Sediment einer 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung mit dem gut gewaschenen und von der Suspensionsflüssigkeit sorgfältig befreitem Sediment von 5 ccm Kaninchenvollblut, das in 2 Fraktionen zugesetzt wurde. Im nachstehenden folgen die Werte für den ausgefällten und nicht ausgefällten Anteil des Serums.

Menge des ausgefällten resp. nicht behandelten Froschserums	5-proz. Kaninchenblutaufschmemmung	Resultat mit	
		ausgefälltem Serum	nicht ausgefälltem Serum
0,06	1 ccm	komplett	komplett
0,04	1 „	„	„
0,02	1 „	Hauch	„
0,01	1 „	große Kuppe	kleine Kuppe
0,008	1 „	0	große Kuppe

In konzentrierter Salzlösung findet also eine nennenswerte Verankerung unseres Hämolysins nicht statt.

Wie die im Vorstehenden mitgeteilten Versuche ergeben, ist es uns also weder durch die direkte Inaktivierung noch durch das Kältetrennungsverfahren noch unter Verwendung hypertonischer Lösung gelungen, eine Trennung von Ambozeptor und Komplement im Froschserum zu erzielen.

Das abweichende Verhalten des Froschserums, im Vergleich zu anderen bekannten hämolytischen Seris ließ es uns zweifelhaft erscheinen, ob die Hämolyse überhaupt hier wirklich auf ein komplexes Hämolysin vom Charakter der Ambozeptoren dritter Ordnung zurückzuführen sei.

In diesem Zweifel bestärkte uns noch die Beobachtung weiterer Eigentümlichkeiten des Froschserums.

Wir fanden, daß das Froschserum bei dem Kaninchen von der Conjunctiva aus entzündungserregend wirkt und auch beim Menschen Brennen und Conjunctivitis erzeugt. Durch Erwärmung auf 50° geht die entzündungserregende Wirkung ebenso wie die hämolytische vollständig verloren. Da diese entzündungserregende Wirkung den hämolytischen Immunseris höherer Tiere vom Ambozeptortypus selbst bei Hinzufügung eines passenden Komplementes, sogar bei subconjunctivaler Injektion, fehlt, andererseits aber dem Aalserum diese Fähigkeit noch in weit höherem Grade zukommt[1]), so lag es nahe, auch bezüglich der Art des Hämolysins ein analoges Verhalten der beiden Sera anzunehmen. Vom Aalserum wissen wir aus den Untersuchungen von Kossel, Camus und Gley, daß sein Hämolysin ein echtes Toxin ist.

Es erschien uns daher ratsamer, ehe wir weitere Versuche zur Komplettierung des inaktivierten Froschserums resp. zur Isolierung von Ambozeptor und Komplement im Froschserum anstellten, zunächst in der angegebenen Richtung Versuche vorzunehmen.

Wenn die hämolytische Wirkung des Froschserums auf Kaninchenblut tatsächlich durch ein echtes Hämotoxin bedingt war, so mußte die Kardinalforderung sich erfüllen lassen, die Ehrlich zur Charakterisierung eines Toxins aufgestellt hat, d. h. es mußte durch Vorbehandlung mit Froschserum die Erzeugung von Antitoxin gelingen und die Neutralisierung nach dem Gesetz der Multipla erfolgen. Als ein Tier, bei dem wir passendere Rezeptoren für das hämolytische Froschgift voraussetzen durften und das entsprechend zur Erzeugung von Antitoxin geeignet erschien, konnten wir das Kaninchen annehmen. Wir behandelten Kaninchen mit Normalfroschserum, indem das erste Mal 1 ccm Serum endovenös, später die gleiche Menge subkutan in 5—8-tägigen Intervallen gegeben wurde. Die Tiere vertrugen die wiederholte Behandlung mit Froschserum sehr schlecht. Zuweilen traten starke Nekrosen auf und häufig gingen uns die Tiere schon bei der 2. bis 3. Vorbehandlung ein. Nur in wenigen Fällen konnten wir mehr Injektionen durchführen. 8 Tage nach der mindestens 3—4maligen Vorbehandlung wurde eine größere Serummenge entnommen und auf ihren antitoxischen Wert geprüft.

Zu dem Zweck wurde zunächst das zur Verwendung gelangende Froschserum auf seinen Gehalt an Hämolysin (Hämotoxin) ausgewertet.

---

1) Ueber die entzündungserregende Wirkung von Kaltblüterseris sind weitere Untersuchungen im Gange, die der eine von uns in Gemeinschaft mit Dr. Weisbrem ausführt.



Den Giftwert des im nachstehenden benutzten Normalfroschserums zeigt uns Tabelle I (Titer 0,02). Unmittelbar nach der Bestimmung der Giftigkeit des Serums wurde das Antifroschserum auf seinen eventuellen Gehalt an Antitoxin gegenüber dem Froschserum geprüft. Es wurde zu dem Zweck die einfache komplett lösende Dosis des Froschserums mit fallenden Mengen von Antifroschserum 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur in Kontakt gelassen. Danach erfolgt Zusatz von je 1 ccm Kaninchenblutaufschwemmung; Ablesung nach 2 Stunden. Das Resultat eines derartigen Versuches zeigt die folgende Tabelle:

Tabelle VI.

Auswertung eines Antifroschserums auf seinen Antitoxingehalt gegenüber hämolytischem Froschgift für Kaninchenblut.

Menge des Froschserums	Menge des Antifroschserums (Kaninchen)	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung	Resultat nach 2 Stunden
0,02	0,08	1 ccm	0
0,02	0,06	1 „	0
0,02	0,04	1 „	0
0,02	0,02	1 „	0
0,02	0,01	1 „	Kuppe
0,02	0,008	1 „	trüb
0,02	0,006	1 „	„
0,02	0,004	1 „	„
0,02	0,002	1 „	komplett

Mit physiologischer Kochsalzauflösung auf 2 ccm aufgefüllt. 2 Std. bei Zimmertemperatur

Wir sehen also, daß 0,02 des Antifroschserums imstande ist, die hämolytische Fähigkeit von 0,02 Froschserum gegenüber Kaninchenblut zu neutralisieren. Bei sofortigem Zusatz der Kaninchenblutkörperchen zur Mischung von Froschserum und Antifroschserum liegt die neutralisierende Dosis etwas höher, wie dies der folgende Versuch zeigt.

Tabelle VII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle VI; nur wurden die Kaninchenblutkörperchen zu der auf 2 ccm aufgefüllten Mischung von Froschserum und Antifroschserum sofort zugesetzt.

Menge des Froschserums	Menge des Antifroschserums	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung	Resultat nach 2 Stunden
0,02	0,08	1 ccm	0
0,02	0,06	1 „	0
0,02	0,04	1 „	0
0,02	0,02	1 „	Kuppe
0,02	0,01	1 „	trüb
0,02	0,008	1 „	Hauch
0,02	0,006	1 „	komplett
0,02	0,004	1 „	„
0,02	0,002	1 „	„

Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.

Handelte es sich hier um die Neutralisation eines echten Toxins durch ein entsprechendes Antitoxin, so mußte weiterhin das Gesetz der Multipla Geltung haben. Zu dem Zweck wurde die in der folgenden

Tabelle VIII niedergelegte Versuchsreihe angestellt, bei der jedoch etwa von dem 5-fachen Giftmultiplum ab ein Ueberschuß des Antitoxins nach dem Vorgang Ehrlichs verwendet wurde, damit nicht ungenügend neutralisierte Bruchteile der Gifteinheit sich allmählich zu einer komplett lösenden Dosis ergänzten.

Tabelle VIII.

Froschserum und Antifroschserum wie in Tabelle VI/VII. Die beiden Sera bleiben 2 Stunden bei Zimmertemperatur in Kontakt, dann Zusatz von 1 ccm 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung. Ablesung nach 24 Stunden.

Froschserum		Anti-froschserum	5-proz. Kaninchenblut-aufschwemmung	Resultat nach 24 Stunden
Lösende Dosen	Absolute Menge			
1	0,02	0,04	1 ccm	0
2	0,04	0,08	1 „	0
3	0,06	0,12	1 „	0
5	0,1	0,25	1 „	0
10	0,2	0,4	1 „	Kuppe
10	0,2	0,8	1 „	0
20	0,4	1,0	1 „	0
20	0,4	1,5	1 „	0
30	0,6	2,5	1 „	0
1	0,02	—	1 „	komplett (Kontrolle)

Normalkaninchenseris kommt eine antitoxische Qualität nicht zu, wie das die folgende Tabelle IX zeigt.

Tabellle IX.

Antiserum wie in Tabelle VIII. Lösende Minimaldosis des benutzten Froschserums 0,04. Es werden 3 Versuchsreihen angesetzt: 1) mit einer lösenden Dosis Froschserum plus variablen Mengen Antifroschserums und 2) u. 3) eine lösende Dosis Froschserum plus variablen Mengen zweier verschiedener Normalkaninchensera.

Froschserummenge	Menge des Antifroschserums resp. Normalkaninchenserums I und II	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung	Resultat mit Antifroschserum	Resultat mit Normalkaninchenserum I	Resultat mit Normalkaninchenserum II
0,04	0,4	1 ccm	—	komplett	komplett
0,04	0,2	1 „	—	„	„
0,04	0,1	1 „	—	„	„
0,04	0,08	1 „	0	„	„
0,04	0,06	1 „	0	„	„
0,04	0,04	1 „	0	„	„
0,04	0,02	1 „	0	„	„
0,04	0,01	1 „	0	„	„
0,04	0,008	1 „	Kuppe	„	„
Auffüllung mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm. 2 Stunden Zimmertemperatur.					

Unsere Versuchsreihe zeigt in der Tat, daß für die Wechselbeziehung zwischen Froschserum und Antifroschserum das Gesetz der Multipla im vollen Umfang Geltung hat, so daß wir zunächst das Hämolysin im Froschserum als ein echtes Toxin im Sinne Ehrlichs ansehen dürfen.

Die Ergebnisse der Immunitätsforschung der letzten Jahre haben jedoch Tatsachen beigebracht, die gerade für die Charakterisierung eines

hämolytischen Toxins noch gewisse Kontrollen verlangen, um mit absoluter Sicherheit das Lysin als ein Toxin charakterisieren zu können. Man kann sich wohl denken, daß durch das gesetzmäßige Verhalten des Froschserums gegenüber dem Antifroschserum ein Antitoxin nur vorgetäuscht würde, während in Wirklichkeit das Ausbleiben der Hämolyse darauf zurückzuführen wäre, daß das Antifroschserum durch Präzipitation mit seinem Antigen, dem Froschserum, aus diesem das Komplement eines komplexen Hämolysins entzogen hätte, daß es sich also um eine Komplementablenkung im Sinne von Gengou-Moreschi gehandelt hätte. Die Richtigkeit dieser Vorstellung vorausgesetzt, mußten wir erwarten, daß auch bei Ueberschuß vom Froschserum im Gemisch gegenüber der Berechnung die Hämolyse gleichfalls ausbleibt, wenigstens bis zu gewissen nicht zu großen Froschserummengen, während andererseits wieder bei einem exzessiven Ueberschuß des Antigens, wie wir aus den Untersuchungen von Michaelis wissen, die Präzipitation, und nach Moreschis Untersuchungen auch die Komplementablenkung nicht eintritt.

Wir stellten deshalb eine Versuchsreihe an, in der zu einer konstanten Dosis von Antiserum (0,1) steigende Dosen des Froschserums zugesetzt wurden. War unsere Voraussetzung richtig, so mußte eine Komplementablenkung und damit ein Ausbleiben der Hämolyse noch weit über die Mengenverhältnisse hinaus statthaben, die nach unserer Berechnung auf Giftneutralisation beruhten, und erst bei größeren Ueberschüssen des Froschserums hätte eine eventuell eingetretene Lösung durch das Phänomen von Michaelis bedingt sein können. Wir sehen jedoch im Gegensatz zu dieser Annahme, daß die Lösung bei den Mengen einsetzt, bei denen nach unserer früheren Auswertung das Verhältnis der Multipla zu Gunsten eines Ueberschusses von Gift überschritten war.

Tabelle X.

Froschserum und Antifroschserum wie Tabelle VIII.

Antifroschserum	Froschserum	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung	Resultat
0,1	0,06	1 ccm	0
0,1	0,08	1 "	0
0,1	0,1	1 "	komplett
0,1	0,12	1 "	"
0,1	0,15	1 "	"
0,1	0,18	1 "	"
0,1	0,2	1 "	"
0,1	0,3	1 "	"
0,1	0,4	1 "	"
Auffüllung mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm. 2 Stunden Zimmertemperatur.			

Nach dem Ausfall dieses Versuches kann füglich nicht die Ablenkung eines hypothetischen Komplementes im Froschserum für das Ausbleiben der Hämolyse in einzelnen Versuchen der Tabelle VIII verantwortlich gemacht werden. Dagegen spricht auch noch in hohem Grad der folgende Versuch:

Tabelle XI.

Es wurden von einem Froschserum, dessen lösende Minimaldosis für Kaninchenblut 0,04 betrug, steigende Mengen zu einem sowohl bei der direkten Präzipitation wie im Ablenkungsversuch mit Meerschweinchenkomplement gut wirksamen präzipitierenden System von Antieiweißkaninchenserum (0,1) plus Eiereiweiß (1 ccm 1 : 1000) zugesetzt. Die drei Komponenten blieben 1 Stunde bei Zimmertemperatur im Kontakt, um dem „Komplement" des Froschserums Gelegenheit zur Ablenkung durch das präzipitierende System zu geben. Danach Zusatz von 5-proz. Kaninchenblut.

Antieiweißserum	Eiereiweiß $^1/_{1000}$	Froschserum	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung	Resultat
0,1	1 ccm	0,02	1,0	0
0,1	1 „	0,04	1,0	komplett
0,1	1 „	0,06	1,0	„
0,1	1 „	0,08	1,0	„
0,1	1 „	0,1	1,0	„

Mit physiol. Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.
1 Stunde bei Zimmertemperatur.

Der hämolytische Titer ist konstant geblieben, es ist also keine Komplementverankerung erfolgt, was allerdings bei dieser Versuchsanordnung im Gegensatz zu der von Tabelle X immer noch damit erklärt werden könnte, daß das artfremde Präzipitat weniger zur Komplementverankerung geeignet wäre.

Aber immerhin führt der Ausfall namentlich des Versuches, der in Tabelle X niedergelegt ist, zu dem zwingenden Schluß, daß die Wechselwirkung zwischen Froschserum und Antifroschserum der zwischen Toxin und Antitoxin entspricht, daß also das Normalfroschserum ein hämolytisches Toxin besitzt, dessen Injektion beim Kaninchen die Bildung eines entsprechenden Antitoxins zur Folge hat.

Beruht die Inaktivierung des Froschserums bei 50° auf einer Zerstörung des Toxins oder wird dabei das Toxin in eine ungiftige Modifikation vom Typus des Toxoids umgewandelt d. h. nur die toxophore Gruppe vernichtet?

Tabelle XII.

Von einem Froschserum, dessen Giftwert für Kaninchenblut 0,05 betrug, welche Dosis durch 0,01 eines Antifroschkaninchenserums glatt neutralisiert wurde, wurde ein Teil 20 Minuten auf 50° erhitzt.

Bestimmten lösenden Dosen des unerhitzten Serums entsprechende Mengen der inaktivierten Quote wurden mit entsprechenden neutralisierenden Dosen des Antiserums versetzt und 2 Stunden bei 15° gelassen. War die haptophore Gruppe des Froschgiftes noch erhalten, so mußte durch sie eine Neutralisation des Antiserums statthaben, so daß bei nachherigem Zusatz von auch nur einer lösenden Dosis Froschserums die Lyse bei Hinzutreten des Kaninchenblutes eintrat.

(Um eine sichere Absättigung durch ein eventuelles Toxoid zu erreichen, wurden größere Mengen des 50°-Froschserums verwandt.)

Menge des Antifroschserums	Menge des Froschserums 50°	Frisches Froschserum	5-proz. Kaninchenblut	Resultat
0,01	0,1	0,05	1,0	komplett
0,02	0,2	0,05	1,0	„
0,04	0,4	0,05	1,0	„

1 Stunde 15° (Menge des Antifroschserums + Menge des Froschserums 50°)
1 Stunde 15° (nach Zusatz des frischen Froschserums)



In diesem Falle müßte das erhitzte Serum noch im stande sein, Antitoxin zu neutralisieren.

Der Ausfall des Versuches zeigt, daß das Antitoxin bereits vor Zutritt des nativen Serums abgesättigt war, daß also durch die Erwärmung auf 50° das Toxin des Froschserums in ein Toxoid umgewandelt wird.

Eine Reihe weiterer Versuche sollte Aufschluß geben über die Spezifizität des Froschgiftes resp. seines Antitoxins. Das Froschserum wirkt annähernd in gleichem Grade wie auf Kaninchenblut auch auf Menschenblut hämolytisch.

Tabelle XIII.

Menge des Froschserums	5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblut resp. Menschenblut	Resultat mit	
		Kaninchenblut	Menschenblut
0,08	1 ccm	komplett	komplett
0,07	1 "	"	"
0,06	1 "	"	"
0,05	1 "	"	"
0,04	1 "	fast komplett	fast komplett
0,03	1 "	Kuppe	Kuppe
0,02	1 "	0	0
0,01	1 "	0	0

Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt. 2 Stunden bei Zimmertemperatur.

Ist das Hämolysin für Kaninchenblut verschieden von dem für Menschenblut? 1,0 Froschserum wird mit 9 ccm 5-proz. gewaschener Menschenblutaufschwemmung 1 Stunde bei Zimmertemperatur in Kontakt gelassen; komplette Lösung. Abzentrifugieren der Blutkörperchenschatten. Der Abguß wird gegenüber Menschenblut und Froschblut austitriert.

Tabelle XIV.

Menge des Abgusses	Resultat bei Zusatz einer 5-proz. Aufschwemmung von	
	Kaninchenblut	Menschenblut
1,0 = 0,1 Serum	komplett	Kuppe
0,9	"	"
0,8	"	"
0,7	"	"
0,6	"	0
0,5 = 0,05 Serum	"	0
0,4	fast komplett	0
0,3	0	0
0,2	0	0

Das Hämolysin für Kaninchenblut ist quantitativ erhalten, das für Menschenblut so gut wie vollständig absorbiert. **Das Hämolysin für Kaninchenblut im Froschserum ist also verschieden von dem für Menschenblut.**

Neutralisiert das Antitoxin gegen das Hämotoxin des Frosches für Kaninchenblut auch ein anderes echtes Hämotoxin? Zur Entscheidung dieser Frage wurde das Aalserum herangezogen, das bekanntlich eine kolossale hämolytische Kraft für Kaninchen- und Menschenblut besitzt, wie durch die Untersuchungen von Kossel, Camus und Glay näher untersucht ist. Die Minimalgiftdosen für beide Gifte gegenüber ein

und derselben 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung sind aus der folgenden Tabelle XV ersichtlich.

Tabelle XV.

Menge des Serums von Aal resp. Frosch	5-proz. Kaninchenblut-aufschwemmung	Resultat nach 2 Stunden mit	
		Froschserum	Aalserum
0,08	1 ccm	komplett	komplett
0,06	1 „	„	„
0,04	1 „	„	„
0,02	1 „	Hauch	„
0,01	1 „	trüb	„
0,008	1 „	Kuppe	„
0,006	1 „	„	„
0,004	1 „	0	„
0,002	1 „	0	„
0,001	1 „		„
0,8 mg	1 „		Hauch
0,6 „	1 „		trüb
0,4 „	1 „		Kuppe
0,2 „	1 „		0
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt. 2 Stunden bei Zimmertemperatur.			

Es wurden nach Auswertung der beiden Gifte zwei Versuchsreihen angesetzt, in denen die Minimaldosen beider Gifte mit steigenden Dosen von Antifroschgift 2 Stunden bei Zimmertemperatur in Kontakt blieben. Danach wurde durch Zusatz von Kaninchenblut bestimmt, inwieweit die beiden Gifte neutralisiert waren.

Tabelle XVI.
Aalgift und Froschgift wie Tabelle XV.

Menge des Aalgiftes resp. Froschgiftes	Menge des Antifroschserums	5-proz. Kaninchen blutaufschwemmung	Resultat mit	
			Froschgift	Aalgift
0,001 Aalgift resp. 0,04 Froschgift	0,1	1 ccm	0	komplett
„	0,08	1 „	0	„
„	0,06	1 „	0	„
,	0,04	1 „	Kuppe	„
„	0,02	1 „	„	„
„	0,01	1 „	trüb	„
„	0,008	1 „	komplett	„
„	0,006	1 „	„	„
„	0,004	1 „	„	„
„	0,002	1 „	„	„
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt. 2 Std. bei Zimmertemp.				

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, daß das Serum des mit Froschgift behandelten Kaninchens bis zu hohen Verdünnungen das Froschgift neutralisiert, aber auf das Aalgift ohne jeglichen Einfluß ist. Es ist also auch das Antitoxin des Froschgiftes streng spezifisch und nicht im stande, ein anderes Hämotoxin zu neutralisieren.

Unsere Versuche führen somit zu dem unzweideutigen Ergebnis, daß die Hämolyse des Froschserums auf Kaninchenblut durch ein echtes Toxin etwa vom Typus des Aalgiftes bedingt ist. Es wäre von Interesse,

weitere Untersuchungen darüber anzustellen, ob vielleicht bei Fischen und Amphibien die Hämolysine allgemein einen Toxincharakter haben und des weiteren zu eruieren, wo alsdann in der Tierreihe das Auftreten des komplexen Hämolysins beginnt.

Vielleicht liegt hier eine ganz bestimmte Gesetzmäßigkeit vor, derart, daß die Hämolysine bei niederen Tieren echte Toxine sind [Kreuzspinne (Sachs), Aal (Camus und Gley, Kossel), Hautgift der Kröte (Pröscher), Serumgift des Frosches (Friedberger und Seelig)], während die durch Lecithin komplettierbaren Lysine, etwa vom Typus des Cobratoxolecithids, den Uebergang zu den echten komplexen Lysinen der höheren Säugetiere darstellen würden[1]). Hierüber sollen uns ausgedehnte Versuche bei verschiedenen Kaltblüterarten Aufschluß geben.

Wir haben dann noch eine auffällige Beobachtung gemacht, die uns bis zu einem gewissen Grade über die Bildungsstätte des Hämotoxins im Organismus des Frosches Aufschluß zu geben vermag. Es ist beim Frosch relativ leicht und ohne erheblichen Blutverlust möglich, die Leber total zu exstirpieren. Man legt einfach nach Oeffnung der Bauchdecke eine doppelte Schlinge um die Wurzel des Organs und trennt durch; Stillung der Blutung mit Thermokauter, doppelte Naht der Bauchdecke. Es gelingt, die operierten Tiere, selbst wenn die letzten Spuren von Leber entfernt sind, noch bis zu 14 Tagen am Leben zu erhalten. Bei derartigen Tieren findet man nach etwa 6 Tagen einen völligen Schwund des Toxins. Im nachstehenden folgt die Auswertung eines solchen Serums im Vergleich mit einem Normalfroschserum.

Tabelle XVII.

Einem Frosch wird am 30. Okt. die Leber exstirpiert. Am 9. Nov. wird der Frosch, der keine Anzeichen schwerer Erkrankung bietet, entblutet. Das Serum wird auf seinen hämolytischen Titer gegenüber Kaninchenblut geprüft; zum Vergleich zugleich ein normales Froschserum.

Menge des Normalserums resp. Serum des entleberten Frosches	5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung	Resultat mit dem Normalfroschserum	Resultat mit dem Serum eines entleberten Frosches
0,1	1 ccm	—	Kuppe
0,08	1 „	komplett	„
0,06	1 „	„	0
0,04	1 „	„	0
0,02	1 „	„	0
0,01	1 „	fast komplett	0
0,008	1 „	Kuppe	0

Diese Versuche sprechen dafür, daß der Leber für die Bildung des hämolytischen Froschgiftes eine wesentliche Rolle zukommt.

Schlußsätze.

1) Im Serum von Rana esculenta sind Hämolysine enthalten, welche nicht dem Typus der komplexen Hämolysine entsprechen, sondern als echte Toxine im Sinne Ehrlichs anzusehen sind.

2) Durch Erhitzung auf 50° werden diese Toxine unwirksam und gehen dabei in Toxoide über.

---

1) Durch die jüngsten Untersuchungen von Dungern und Coca ist allerdings die Existenz von durch Lecithin komplettierbaren echten Ambozeptoren in Frage gestellt, doch hat Sachs die Ergebnisse dieser Autoren in einer soeben erschienenen Arbeit nicht bestätigen können.

3) Es gelingt durch Vorbehandlung von Kaninchen mit hämolytischem Froschserum Antilysine zu erzeugen.

4) Für die gegenseitige Einwirkung zwischen Lysin und Antilysin gilt das Gesetz der multipla.

5) Die antilytische Wirkung des Serums des mit Froschserum behandelten Kaninchens beruht auf der Gegenwart eines echten Antitoxins und ist nicht durch Komplementablenkung vorgetäuscht.

6) Das Toxin im Froschserum für Mensehenblut ist verschieden von dem für Kaninchenblut.

7) Das Antitoxin im Serum des mit Froschserum vorbehandelten Kaninchens neutralisiert ausschließlich das Gift im Serum des Frosches, nicht das des Aales.

8) Bei Leberexstirpation verschwindet nach einiger Zeit das Hämolysin für Kaninchenblut aus dem Serum des Frosches.

Literatur.

Camus et Gley, Arch. intern. de Pharmacod. T. V. 1898. — Annal. Inst. Pasteur. 1899.
Dungern und Coca, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 47.
Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1899. No. 1.
Hektoen und Ruediger, Journ. of infect. diseases. Vol. I. 1894.
Kossel, Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 7.
Michaelis, Hofmeisters Beitr. Bd. IV. 1903.
Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 4.
Noguchi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903. p. 283, 286.
Pröscher, Hofmeisters Beitr. Bd. I. 1902.
Sachs, Hofmeisters Beitr. Bd. II. 1902.
— —, Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 9.

Ueber die Beziehungen zwischen Lecithin und Serumkomplement bei der Hämolyse durch Cobragift.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer.)]

Von Dr. **Carlo Bezzola,**

Assistenten am Institute für spezielle Pathologie der Universität Pavia. (Direktor: Prof. Devoto.)

Die schönen Untersuchungen Moreschis über die Komplementablenkung, die zuerst die prinzipielle Bedeutung dieses Phänomens erschlossen haben, gaben den Anstoß zu einer Reihe fruchtbringender Nutzanwendungen auf dem Gebiete der medizinischen Diagnostik. Diese Arbeiten, die speziell von Wassermann und seiner Schule ausgeführt wurden, zeugen aufs neue, wie nutzbringend sich die Ergebnisse rein theoretischer Forschung auf dem Gebiete der Immunitätslehre für die medizinische Praxis erweisen. Durch diese verdienstvollen Arbeiten ist das Interesse an der Lösung theoretischer Fragen vermittelst der Methode der Komplementablenkung in der letzten Zeit mehr in den Hintergrund getreten.

Ich habe nun speziell die Methode benutzt, um die noch strittige Frage über die Beziehungen zwischen Komplement und Lecithin bei



der Cobragifthämolyse zu entscheiden. Nach den Untersuchungen von Flexner und Noguchi sowie der ursprünglichen Anschauung von Kyes ist sowohl das Serumkomplement wie das Lecithin im stande, das Cobragift in gleicher Weise zu aktivieren, während Kyes und Sachs später annehmen, daß ausschließlich die Aktivierung des Cobragiftes durch das Lecithin erfolgt; das Komplementserum soll dabei einzig und allein die Funktion haben, das Lecithin der roten Blutkörperchen selbst zur Verwendung für das Cobragift freizumachen.

Gegen die Auffassung von Flexner, Noguchi und Kyes haben sich neuerdings von Dungern und Coca gewandt. Sie nehmen an, daß im Schlangengift zwei Hämolysine vorhanden sind, eines vom Charakter des sich mit den Blutkörperchen verankernden Ambozeptors ausschließlich durch Komplement komplettierbar, und ein zweites Hämolysin, das „mit dem Lecithin reagiert und mit diesem zusammen Hämolyse bedingt, ohne für sich allein mit den Blutkörperchen in Beziehung zu treten“. Durch Behandlung mit Rinderblut ist es den Autoren gelungen, beide Substanzen ohne Verlust vollkommen zu trennen.

Bereits vor der Veröffentlichung von Dungerns und Cocas habe ich Untersuchungen angestellt, die die Beziehungen zwischen Serumkomplement und Lecithin bei der Cobragifthämolyse zum Gegenstand hatten. Es interessierte mich vor allem die Frage, zu entscheiden, ob bei der Hämolyse des Ochsenbluts durch Cobragift die Komplettierung durch das Meerschweinchenserum gleichfalls auf das Lecithin zurückzuführen ist, oder ob ein vom Lecithin verschiedener, dem gewöhnlichen Komplement entsprechender Anteil des Serums hier in Frage käme. Es lag nahe, diese Frage mit dem Komplementablenkungsverfahren zu untersuchen. Unter der Voraussetzung, daß in gleicher Weise wie das Serumkomplement auch das Lecithin von einem Präzipitat verankert würde, mußte man versuchen, ob ein mit Lecithin vollständig gesättigtes Präzipitat noch im stande sei, Komplement zu absorbieren und umgekehrt. In diesem Falle wäre die Verschiedenheit der beiden Faktoren bewiesen. Um diese Frage zu entscheiden, mußten wir aber zunächst Untersuchungen darüber anstellen, ob das Präzipitat in der Tat im stande ist, Lecithin zu verankern.

Zu meinen Versuchen benutzte ich ausschließlich Lecithin-Agfa, das genau nach den Angaben von Keyes zu 1 Proz. im Methylalkohol gelöst wurde[1]). Das zu den Versuchen benutzte Cobragift war durch Herrn Prof. Calmette-Lille dem Institute in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt.

Herrn Prof. Calmette sei dafür auch an dieser Stelle verbindlichst gedankt.

Es wurde nun zunächst für eine konstante Dosis von Ochsenblut und Cobragift die minimale komplettierende Menge der Lecithinlösung für Cobragift festgestellt und dann untersucht, ob ein Präzipitat (in der Regel wurde als präzipitierendes Serum Eiklar 1:100 und Kaninchen-Antieiklarserum benutzt) im stande ist, die komplettierende Wirkung unserer Lösung für das Cobrahämolysin zu schwächen.

1) Diese Lösung ist im Nachstehenden als Einheitslösung betrachtet. Eine 1-proz. Lösung bedeutet z. B. alsdann eine Lösung von einem Teil obiger Stammlösung in 99 Teilen physiologischer Kochsalzlösung.

Tabelle I.

Präzipitat (Kaninchen mit Eiklar vorbehandelt + Eiklar) 12 Stunden mit 10 ccm Lecithin $^{1}/_{100}$ in Kontakt; danach wird zentrifugiert; Prüfung des Abgusses auf seine komplettierende Fähigkeit für Cobragift.

Abguß	= Lecithin	Cobragift	5 Proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 37°
0,1	0,001	0,1	1 ccm	0
0,2	0,002	0,1	1 „	0
0,3	0,003	0,1	1 „	0
0,4	0,004	0,1	1 „	0
0,5	0,005	0,1	1 „	0
0,6	0,006	0,1	1 „	0
0,7	0,007	0,1	1 „	0
0,8	0,008	0,1	1 „	Kuppe
0,9	0,009	0,1	1 „	„
1,0	1	0,1	1 „	fast komplett

Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.

Kontrolle.

Lecithinlösung $^{1}/_{100}$ vor 12 Stunden hergestellt und bei gleicher Temperatur gehalten wie obige Mischung.

1-proz. Lösung	= Lecithin	Cobragift	5 Proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 36°
0,1	0,001	0,1	1 ccm	0
0,2	0,002	0,1	1 „	0
0,3	0,003	0,1	1 „	0
0,4	0,004	0,1	1 „	trübe
0,5	0,005	0,1	1 „	komplett
0,6	0,006	0,1	1 „	„

Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.

Aus dieser Tabelle ergibt sich unzweideutig, daß in der Tat ein Präzipitat in gleicher Weise wie das Komplement eines komplexen Hämolysins auch das das Cobragift aktivierende Lecithin zu verankern im stande ist.

Wenn man mit den gleichen Präzipitatmengen in parallelen Versuchsreihen einerseits Komplementserum, andererseits Lecithinlösung, deren komplettierende Kraft für Cobragift vorher genau quantitativ bestimmt sind, zusammenbringt, so ergibt sich, daß immerhin das Präzipitat mehr komplettierende Einheiten dem Serum entzieht, als der Lecithinsolution unter sonst gleichen Versuchsbedingungen.

Nachdem aber durch den in Tabelle I niedergelegten Versuch die Fähigkeit der Präzipitate, Lecithin in relativ beträchtlichen Mengen zu absorbieren, bewiesen war, war die Entscheidung der von mir aufgeworfenen Frage mit Hilfe der Komplementablenkung nunmehr ermöglicht.

Ich habe nun zunächst ein Präzipitat so lange mit Lecithin behandelt, bis alle Affinitäten für Lecithin gesättigt waren, d. h. bis neu zugesetzte Mengen der Lecithinemulsion vollständig quantitativ ihren ursprünglichen Titer nach dem Abzentrifugieren bewahrt hatten. Ein derartig mit Lecithin vollständig beladenes Präzipitat wurde nunmehr mit normalem Meerschweinchenserum in Kontakt gebracht, dessen komplettierender Titer für Cobragift vorher aufs genaueste ausgewertet war. Es ergibt sich, daß das zuvor mit Lecithin gesättigte Präzipitat noch

in gleicher Weise wie ein natives Präzipitat im stande ist, das komplettierende Prinzip des Meerschweinchenserums für Cobragift zu absorbieren.

Tabelle II.

Ein Präzipitat (Eiklar + Serum eines mit Eiklar behandelten Kaninchen) wurde zuerst mit Lecithin vollständig gesättigt. E. bedeutet den Abguß nach der weiteren Behandlung des beladenen Präzipitates 3 Stunden bei 15° mit in toto 10 ccm Lecithin $^{1}/_{100}$. F. ist eine Lecithinlösung $^{1}/_{100}$, die ohne weitere Behandlung zur Kontrolle 3 Stunden bei 15° gestanden hat.

E. =	Lecithin	Cobragift	5 Proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 37°	F. =	Lecithin	Cobragift	5 Proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 37°
0,1	0,001	0,1	1 ccm	0	0,1	0,001	0,1	1 ccm	0
0,2	0,002	0,1	1 „	0	0,2	0,002	0,1	1 „	0
0,3	0,003	0,1	1 „	0	0,3	0,003	0,1	1 „	0
0,4	0,004	0,1	1 „	komplett	0,4	0,004	0,1	1 „	komplett
0,5	0,005	0,1	1 „	„	0,5	0,005	0,1	1 „	„
0,6	0,006	0,1	1 „	„	0,6	0,006	0,1	1 „	„
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.					Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.				

Der Versuch zeigt die vollständige Beladung des Präzipitates mit Lecithin.

Das mit Lecithin gesättigte Präzipitat des obigen Versuches wird nach sorgfältiger Waschung in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit der gleichen Menge Normalmeerschweinchenserum (Komplement) versetzt und 3 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen; danach wird zentrifugiert. Der Abguß (G) wird auf seine komplementierende Eigenschaft geprüft.

Eine gleiche Menge eines nichtbehandelten Präzipitates wird wiederum in 3 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit 3 ccm Komplement versetzt und 3 Stunden bei 15° gelassen; danach wird zentrifugiert. Der Abguß (H) wird auf seine komplementierende Eigenschaft geprüft.

G =	Komplement	Cobragift	5-proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat der Hämolyse nach 2 Std. bei 37°	H =	Komplement	Cobragift	5-proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat der Hämolyse nach 2 Std. bei 37°
0,02	0,01	0,1	1 ccm	0	0,02	0,01	0,1	1 ccm	0
0,04	0,02	0,1	1 „	0	0,04	0,02	0,1	1 „	0
0,06	0,03	0,1	1 „	0	0,06	0,03	0,1	1 „	0
0,08	0,04	0,1	1 „	0	0,08	0,04	0,1	1 „	0
0,1	0,05	0,1	1 „	Spur	0,1	0,05	0,1	1 „	Spur
0,2	0,1	0,1	1 „	kl. Kuppe	0,2	0,1	0,1	1 „	Kuppe
0,3	0,15	0,1	1 „	„	0,3	0,15	0,1	1 „	trübe
0,4	0,2	0,1	1 „	„	0,4	0,2	0,1	1 „	„
0,5	0,25	0,1	1 „	„	0,5	0,25	0,1	1 „	„
0,6	0,3	0,1	1 „	„	0,6	0,3	0,1	1 „	„
0,7	0,35	0,1	1 „	„	0,7	0,35	0,1	1 „	„
0,8	0,4	0,1	1 „	„	0,8	0,4	0,1	1 „	„
0,9	0,45	0,1	1 „	„	0,9	0,45	0,1	1 „	„
1,0	0,5	0,1	1 „	„	1,0	0,5	0,1	1 „	„
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.					Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.				

Kontrolle.

Komplement	Cobragift	5-proz. Rinderblutaufschwemmung	Resultat der Hämolyse nach 2 Std. bei 37°
0,01	0,1	1 ccm	0
0,02	0,1	1 „	komplett
0,03	0,1	1 „	„
0,04	0,1	1 „	„
0,05	0,1	1 „	„
0,06	0,1	1 „	„

Als experimentum crucis wurde nun ein Versuch angestellt, in dem die Beladung des Präzipitats ursprünglich mit Komplement bis zur völligen Absättigung erfolgte und das Lecithin nachher zugesetzt wurde. Dieses Präzipitat war dann wiederum im stande, Lecithin zu absorbieren.

Tabelle III.

Präzipitat (Kaninchen mit Eiklar vorbehandelt + Eiklar) mit Komplement zuvor gesättigt, wie sich aus der folgenden Tabelle ergibt, in der A. den Abguß des Präzipitats nach der weiteren Behandlung mit 10 ccm Komplement $^1/_{10}$ während 3 Stunden bei Zimmertemperatur und B eine Komplementverdünnung $^1/_{10}$, die nur 3 Stunden bei Zimmertemperatur stand, bedeutet.

A =	Komplement	Cobragift	5-proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 37°	B =	Komplement	Cobragift	5-proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 36°
0,1	0,01	0,1	1 ccm	θ	0,1	0,01	0,1	1 ccm	θ
0,2	0,02	0,1	1 „	komplett	0,2	0,02	0,1	1 „	komplett
0,3	0,03	0,1	1 „	„	0,3	0,03	0,1	1 „	„
0,4	0,04	0,1	1 „	„	0,4	0,04	0,1	1 „	„
0,5	0,05	0,1	1 „	„	0,5	0,05	0,1	1 „	„
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.					Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.				

Das mit Komplement gesättigte Präzipitat des vorigen Versuchs wird wiederholt sorgfältig gewaschen, mit 10 ccm Lecithin $^1/_{100}$ versetzt und 4 Stunden in Kontakt gelassen; dann wird zentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen und auf ihre komplettierende Fähigkeit geprüft C.

Ein weiteres Präzipitat wie im vorigen Versuch (kleinere Menge; etwa $^2/_3$, ein Teil ging verloren), jedoch nicht beladen, wird mit der gleichen Menge Lecithin, wie im vorigen Versuch, 4 Stunden bei Zimmertemperatur beladen; dann wird zentrifugiert. Der Abguß wird auf seine komplettierende Fähigkeit geprüft D.

C =	Lecithin	Cobragift	5-proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 St. bei 37°	D =	Lecithin	Cobragift	5-proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 37°
0,3	0,003	0,1	1 ccm	0	0,3	0,003	0,1	1 ccm	0
0,4	0,004	0,1	1 „	0	0,4	0,004	0,1	1 „	0
0,5	0,005	0,1	1 „	0	0,5	0,005	0,1	1 „	0
0,6	0,006	0,1	1 „	0	0,6	0,006	0,1	1 „	0
0,7	0,007	0,1	1 „	0	0,7	0,007	0,1	1 „	0
0,8	0,008	0,1	1 „	0	0,8	0,008	0,1	1 „	fast komplett
0,9	0,009	0,1	1 „	Spur	0,9	0,009	0,1	1 „	„
1,0	0,01	0,1	1 „	„	1,0	0,01	0,1	1 „	komplett
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.					Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.				

Kontrolle.

Lecithin	Cobragift	5-proz. gewaschene Rinderblutkörperchen	Resultat nach 2 Std. bei 37°
0,002	0,1	1 ccm	0
0,003	0,1	1 „	0
0,004	0,1	1 „	0
0,005	0,1	1 „	komplett
0,006	0,1	1 „	„
Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.			

Der Ausfall dieser beiden Versuche zeigt unzweideutig, daß die Komplettierung durch Lecithin und normales Meerschweinchenserum zwei verschiedenen Substanzen zu verdanken ist und speziell die Komplettierung durch das Meerschweinchenserum nicht auf dessen Lecithingehalt beruht.

Nachdruck verboten.

Beeinflusst die Darreichung von Alkohol die Resistenz der Erythrocyten des Kaninchens gegenüber hämolytischen Seris?

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von **E. Friedberger** und **H. Doepner.**

In einer Arbeit „Ueber die Einwirkung kleinster Alkoholmengen auf die Widerstandsfähigkeit des tierischen Organismus mit besonderer Berücksichtigung der Nachkommenschaft“ (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVIII. Heft 1) hat Laitinen u. a. Untersuchungen über eine eventuelle Schädigung der Erythrocyten des Kaninchens unter dem Einfluß einer längere Zeit fortgesetzten Darreichung kleiner Alkoholdosen angestellt. Zum Vergleich wurden die roten Blutkörperchen von mit Wasser gefütterten Kontrolltieren herangezogen.

Zum Nachweis einer Schwächung der Erythrocyten der Alkoholtiere wurde ihre Resistenz gegenüber einem hämolytischen Serum zusammen mit der der Wasserkontrollen geprüft. Eine Schädigung der Erythrocyten mußte in einer Verminderung ihrer Resistenz, d. h. in einer Erhöhung der Hämolysierbarkeit zum Ausdruck kommen.

Als hämolytisches Serum benutzte Laitinen normales Rinderserum, „das Serum war nie mehr als 7 Tage alt“ (!).

Es wurde diejenige Minimalmenge ermittelt, die gerade noch im stande war, 1 ccm 5-proz. Blutkörperaufschwemmung der Alkohol- resp. Wasserkaninchen zu lösen.

Die von Laitinen gegebenen Alkoholdosen waren sehr gering. 0,1 ccm Alkohol pro die und pro Kilogramm Tier in 10-proz. Lösung; die Kontrollen erhielten entsprechende Mengen von Wasser.

Trotz dieser minimalen Alkoholgaben fand Laitinen nach einer in den einzelnen Versuchen 19—89 Tage dauernden Fütterung mit in

toto Mengen von 1,6—15 ccm absoluten Alkohols, daß die „minimalen Alkoholgaben von 0,1 ccm per Kilogramm Tier die Hämolysierbarkeit der roten Blutkörperchen des Kaninchens durch fremdes Serum befördert haben“.

Wenn man bedenkt, wie schwer es bekanntlich gerade bei Versuchstieren gelingt, pathologische Veränderungen der Organe selbst bei lange Zeit fortgesetzter forcierter Alkoholisierung zu erzielen, so müssen die Resultate von Laitinen, die in relativ kurzer Zeit mit Mengen erreicht wurden, die, auf den Menschen berechnet, etwa 200 g Bier pro die entsprechen, a priori höchst auffallend erscheinen.

Allerdings wäre es ja nicht unmöglich, und darin läge gerade die Bedeutung dieser Versuche, daß durch die feinen biologischen Methoden hier Differenzen aufgedeckt würden, die bei der histologischen Untersuchung verborgen bleiben.

Nun sind aber die Differenzen im Verhalten der Wasser- und Alkoholtiere, auf Grund deren Laitinen zu seinem Resultat kommt, so minimal, daß bei der nicht großen Zahl von Versuchen wohl Zweifel an der allgemeinen Gültigkeit seines Ergebnisses gerechtfertigt sind.

Wenn wirklich Veränderungen der Erythrocyten im Sinne von Laitinen durch die Alkoholdarreichung zu stande kommen, so müßten sie natürlich bei der Behandlung mit größeren Alkoholdosen während noch längerer Versuchsperioden um so deutlicher hervortreten.

Versuche in dieser Richtung haben wir vor nunmehr bereits $2^1/_2$ Jahren von den gleichen Erwägungen wie Laitinen ausgehend und in einer ganz analogen Versuchsanordnung angestellt.

Auch wir behandelten Kaninchen mit Alkohol per os durch Schlundsonde und entsprechende Kontrollen mit Leitungswasser. Doch waren unsere Tiere zum Teil doppelt so lang, wie die von Laitinen im Versuch, und die von uns verabreichte Alkoholdosis, die jeden zweiten Tag gegeben wurde, betrug in toto bei einer Reihe von Tieren bis zu 390 ccm absoluten Alkohols, das ist das 26-fache der von Laitinen angewandten Maximaldosis von in toto 15 ccm; dazu wurde der Alkohol von uns in $2^1/_2$-fach höherer Konzentration (25-proz. gegenüber 10-proz. bei Laitinen) gegeben.

Nach der Alkoholfütterung lagen die Tiere fast ausnahmslos längere Zeit völlig apathisch schwer berauscht im Stalle.

Auf den Menschen von 70 kg berechnet, entsprach die von uns pro die gegebene Alkoholmenge 175 g = 5 l Bier.

Trotz derartiger forcierter Versuchsbedingungen konnten wir eine Verminderung der Resistenz der roten Blutkörperchen im Vergleich zu den unter den gleichen Bedingungen gehaltenen gleich lang mit Leitungswasser gefütterten Kontrollen gegenüber einem hämolytischen Serum nicht nachweisen.

Wegen dieses gänzlich negativen Ergebnisses haben wir seinerzeit auch von einer Veröffentlichung unserer Resultate Abstand genommen. Die für uns höchst unerwarteten abweichenden Ergebnisse Laitinens veranlassen uns aber, nunmehr unsere Versuche kurz mitzuteilen.

Aus der nachstehenden Tabelle I sind Dauer der Alkoholbehandlung und Mengen des zur Verabreichung gelangten Alkohols ersichtlich.

Da innerhalb der sich auf 4 Monate erstreckenden Periode der Vorbehandlung ein Teil der Tiere einging und dafür neue eingestellt wurden, so ist die Dauer der Alkoholisierung resp. Wasserbehand-

lung bei den einzelnen Tieren natürlich nicht die gleiche. Uebrigens haben die Kaninchen auch die lange Zeit fortgesetzte Alkoholisierung gut vertragen, was sich aus dem Konstantbleiben des Gewichtes resp. der Gewichtszunahme bei der Mehrzahl der Tiere ergibt.

Tabelle I.

Die Tiere erhielten jeden zweiten Tag 25 ccm 25-proz. Alkohol mit der Schlundsonde resp. die gleiche Menge Leitungswasser. Nur die beiden ersten Male wurde weniger (10 resp. 20 ccm) gegeben.

Beginn der Versuche 29. Juli 1905.

No. des Tieres	Tag der Einstellung	Gewicht am Anfang	Gewicht nach Abschluß des Versuchs	Tier war behandelt mit Alkohol	Tier war behandelt mit Wasser	Dauer der Behandlung in Tagen	Menge des im ganzen gegeb. absol. Alkohols in ccm
1	28. Okt.	2100	1900	—	Wasser	35	—
2	29. Juli	2500	2400	Alkohol		126	388
3	29. Juli	2900	3300	„		126	388
4	13. Nov.	3650	3150	„		19	57
6	29. Juli	2480	2500	„		126	388
7	29. Juli	2700	2100	„		126	388
8	28. Okt.	1600	1550	—	Wasser	35	—
9	13. Nov	2550	2300	Alkohol		19	57
10	28. Okt.	2400	2200	„		35	106
14	13. Aug.	1600	1600	„		111	336
16	15. Aug.	1400	—	—	Wasser	109	—

Am 1. Dez. wurde allen Kaninchen Blut aus der Carotis entnommen und defibriniert.

Je 5 ccm dieses Blutes der einzelnen Tiere wurden mit physiologischer Kochsalzlösung 3mal gewaschen und in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Die Resistenz der verschiedenen Blutaufschwemmungen wurde nun mittels des inaktivierten Immunserums zweier Meerschweinchen geprüft, die mit Kaninchenblutkörperchen vorbehandelt waren. Als Komplement diente normales Meerschweinchenserum. Es wurden fallende Mengen des Ambozeptorserums auf 1 ccm aufgefüllt mit 1 ccm der Blutaufschwemmungen und je 0,1 Komplement 2 Stunden bei 37° gehalten. Nach weiteren 18 Stunden Zimmertemperatur erfolgte die Ablesung.

Ueber die Resultate bei den mit Wasser behandelten Tieren gibt die folgende Tabelle II und über die mit Alkohol behandelten Tiere Tabelle III Auskunft.

Tabelle II.

Hämolyse bei den mit Wasser behandelten Tieren.

	Kaninchen 1	Kaninchen 8	Kaninchen 16
0,1	komplett	fast komplett	fast komplett
0,05	fast komplett	inkomplett	inkomplett
0,025	kleine Kuppe	Kuppe	Kuppe
0,01	Kuppe	Spur	Spur
0,0075	Spur	geringe Spur	geringe Spur
0,005	geringe Spur	0	0
0,003	0	0	0

Tabelle III.
Hämolyse bei den mit Alkohol behandelten Tieren.

	Kan. 2	Kan. 3	Kan. 4	Kan. 6	Kan. 7	Kan. 9	Kan. 10	Kan. 14
0,1	f. kompl.	f. kompl.	komplett	inkompl.	komplett	f. kompl.	kl. Kuppe	f. kompl.
0,05	kl. Kuppe	inkompl.	f. kompl.	kl. Kuppe	inkompl.	inkompl.	Kuppe	inkompl.
0,025	Kuppe	Kuppe	kl. Kuppe	Kuppe	kl. Kuppe	Kuppe	Spur	Kuppe
0,01	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Spur	ger. Spur	Spur
0,0075	Spur	ger. Spur	ger. Spur	Spur	Spur	ger. Spur	fast 0	ger. Spur
0,005	ger. Spur	0	0	ger. Spur	ger. Spur	ger. Spur	0	0
0,003	0	0	0	0	0	0	0	0

Diese Tabelle zeigt, daß innerhalb der von uns eingehaltenen Versuchsbedingungen eine durch verminderte Resistenz gegenüber hämolytischen Seris nachweisbare Schädigung der Erythrocyten des Kaninchens durch die Alkoholbehandlung nicht erfolgt. Da die von uns verwandten Alkoholdosen die von Laitinen verfütterten ganz enorm überstiegen, so vermögen wir die allgemeine Gültigkeit der von Laitinen erhobenen Befunde nicht anzuerkennen.

Aus den Verhältnissen, wie sie hier beim Kaninchen zu Tage treten, Schlüsse auf das Verhalten des Menschen zu ziehen, halten auch wir nicht für angebracht.

Wir hatten Versuche einerseits bei Potatoren, andererseits bei Abstinenten resp. Mäßigen im Anschluß an unsere Kaninchenversuche seinerzeit geplant, konnten sie jedoch mangels eines geeigneten Materials nicht zur Ausführung bringen.

Ueber das Verhalten der Komplemente in hypertonischen Salzlösungen.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Prof. Dr. E. **Friedberger,** I. Assistenten am Institute.

Ueber die Natur und die Wirkungsweise der Komplemente sind in der jüngsten Zeit interessante neue Befunde durch Ferrata, einem Schüler Morgenroths, durch Sachs und Teruuchi sowie durch Brand veröffentlicht worden.

Ferrata hat im Anschluß an ältere Beobachtungen Buchners den Nachweis erbracht, daß in salzfreier resp. salzarmer Lösung, deren Isotonie für die Erythrocyten durch Zucker gewahrt ist, die Hämolyse trotz der Verankerung des Ambozeptors ausbleibt, da das Komplement seine Wirksamkeit verliert. Nach den eingehenden Unterschungen von Sachs und Teruuchi wird unter gewissen Versuchsbedingungen das Komplement in salzarmer Lösung dauernd zerstört. Ferrata hat denn weiterhin die wichtige Beobachtung gemacht, daß das seither als einheitlich angesehene Komplement bei der Dialyse gegen destilliertes Wasser in 2 Komponenten zerfällt, deren eine in den Niederschlag des Serumglobulins übergeht, deren andere in Lösung bleibt.

Durch Vereinigung dieser beiden Komponenten in salzhaltiger Lösung wird die volle Komplementwirkung wieder erzielt. Den Untersuchungen

Brands verdanken wir weitere Tatsachen über die Konstitution des komplexen Komplements.

Er wies nach, daß bei getrennter Einwirkung der Komponenten nur die des Niederschlags „Mittelstück“ von den ambozeptorbeladenen Blutkörperchen aufgenommen wird, die ihrerseits bei kombinierter Einwirkung das „Endstück“ des Abgusses verankert.

Durch Aufenthalt in Kochsalzlösung verliert das Mittelstück die Reaktionsfähigkeit, mit dem Endstück gewinnt sie jedoch nach Verankerung am ambozeptorbeladenen Blutkörperchen wieder.

Während die hier mitgeteilten Untersuchungen sich im wesentlichen mit dem Einfluß hypotonischer Kochsalzlösungen resp. destillierten Wassers auf das Komplement befassen, habe ich gelegentlich anderer Versuche bereits vor längerer Zeit Untersuchungen über das Verhalten der Hämolyse in hypertonischen Salzlösungen angestellt.

Ich unterließ eine Veröffentlichung meiner ausgedehnten Versuchsreihen, da inzwischen Hektoen und Hektoen und Rüdiger in einer sehr sorgfältigen Arbeit völlig analoge Resultate beigebracht hatten.

Bei Gelegenheit der betreffenden Versuche habe ich damals die Beobachtung gemacht, daß die in konzentrierter Salzlösuug gehaltenen Komplementsera ohne besondere Kautelen aufbewahrt, relativ lange ihre volle Wirksamkeit bewahrten.

Die konzentrierten Salzlösungen schienen sich also nach meinen Untersuchungen bezüglich des Komplements gerade umgekehrt zu verhalten, wie die hypotonischen nach den Untersuchungen von Buchner, Ferrata, Sachs und Teruuchi.

Jedenfalls wäre die Tatsache einer Komplementkonservierung auf so einfache Weise sowohl theoretisch wie für die Praxis und Technik des Hämolyseversuches nicht ohne Bedeutung.

Ich habe deshalb systematische Versuche über die Haltbarkeit des mit Salzen versetzten Komplementserums angestellt.

In der Literatur liegen Angaben hierüber bislang nicht vor.

Nur Buchner hat in einer Arbeit „Ueber den Einfluß der Neutralsalze auf Serumalexine, Enzyme, Toxalbumine, Blutkörperchen und Milzbrandsporen“ (Arch. f. Hyg. Bd. XVII. p. 138) berichtet, daß verschiedene tierische Sera bei Salzzusatz eine erhöhte Thermoresistenz in ihrem bakteriziden Vermögen gegenüber Typhus und Cholera und in ihrer globuliziden Fähigkeit erfahren.

Entsprechend Buchners Auffassung von der Einheitlichkeit des Alexins kommt aber diesen älteren Versuchen für die vorliegende Frage nur eine beschränkte Bedeutung zu.

Technik der Versuche.

Als Komplement wurde ausschließlich frisches normales Meerschweinchenserum verwendet.

Die Auswertung auf Komplementgehalt geschah mit dem inaktivierten Serum eines mit Ziegenerythrocyten vorbehandelten Kaninchens und 5-proz. Aufschwemmung zweimal mit reichlichen Kochsalzmengen gewaschener stets frisch gewonnener Ziegenerythrocyten. Der Titer des Serums betrug 0,5 mg. Doch wurde durchgehend ein größeres, ca. 10-faches Multiplum der Ambozeptordosis = 0,005 angewandt, um entsprechend den Beobachtungen von Morgenroth und Sachs über die quantitativen Beziehungen zwischen Ambozeptor und Komplement in der Volumeinheit des Komplementserums möglichst viele Komplementein-

heiten zu haben. Dadurch war es möglich, in den einzelnen Versuchen mit relativ geringen Serummengen auszukommen und zugleich die Verdünnungen, wie sie bei Verwendung konzentrierter Salzlösungen nachher nötig waren, bequem herzustellen.

Das zur Komplementgewinnung durch Aderlaß der Meerschweinchen erhaltene Blut blieb 8—12 Stunden zur Serumabscheidung im Eisschrank und wurde dann zur völligen Klärung nochmals zentrifugiert.

Danach wurde das völlig klare Meerschweinchenserum auf seinen Gehalt an Komplement untersucht; dies geschah auf folgende Weise.

Fallende Komplementmengen mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt, wurden mit 1 ccm Ambozeptorserum $^1/_{200}$ und 1 ccm 5-proz. Aufschwemmung homologer Blutkörper versetzt und für 2 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach weiteren 12—14 Stunden bei Zimmertemperatur erfolgte alsdann Ablesung. Als „Komplementtiter" wurde dabei die minimale Komplementmenge angesehen, die noch gerade vollkommene Hämolyse herbeiführte, d. h. eine solche Lösung der Erythrocyten, daß auch beim Umschütteln des Röhrchens die durch den Hämoglobinaustritt rot gefärbte Flüssigkeit absolut klar blieb. Trat beim Schütteln auch nur eine leichte Trübung ein („Hauch"), so lag nach meinem Ablesungsmodus die betreffende Komplementdosis bereits unterhalb des Titers. Es sei hier darauf hingewiesen, daß bei dem verwandten Ambozeptorüberschuß meines außerordentlich prompt wirksamen (durch längere Vorbehandlung gewonnenen) Ambozeptorserums die Uebergänge ungewöhnlich scharf und eindeutig hervortraten.

Die folgende Tabelle I zeigt das Resultat einer derartigen Komplementtitrierung:

Tabelle I.

10 Meerschweinchen von 200—300 g werden getötet; das Mischserum wird auf seinen Gehalt an Komplement geprüft.

Dosis des Normalmeerschweinchenserum	Dosis der 5-proz. Blutkörper	Ambozeptordosis	Resultat
0,07	1 ccm	1 ccm $^1/_{200}$	komplett
0,06	1 „	1 „	„
0,05	1 „	1 „	„
0,04	1 „	1 „	„
0,03	1 „	1 „	„
0,02	1 „	1 „	„
0,01	1 „	1 „	„
0,008	1 „	1 „	Hauch
0,006	1 „	1 „	trübe
0,004	1 „	1 „	Kuppe, obenstehende Flüssigkeit rot
0,002	1 „	1 „	Kuppe, obenstehende Flüssigkeit leicht rötlich
0,001	1 „	1 „	Kuppe, obenstehende Flüssigkeit farblos

Versuche über den Einfluß des Kochsalzes auf die Komplementkonservierung.

Nach erfolgter Auswertung wurde das Serum mit Kochsalz in variabeln Mengen versetzt. Natürlich wurde Natrium chlorat. purissimum verwandt, die Abwägung geschah auf das genaueste mittels der chemischen Wage. Genau abgemessene Mengen des gesalzenen und ungesalzenen Serums wurden nun in verschiedener Weise aufbewahrt und von Zeit zu Zeit

auf die Abnahme an Komplement untersucht. Es wurden dazu zunächst Verdünnungen hergestellt, bei den ungesalzenen Seris mit physiologischer Kochsalzlösung, bei den gesalzenen mit physiologischer Kochsalzlösung und so viel destillierten Wassers, daß die normale 0,8-proz. Salzkonzentration erzielt wurde.

Es sei noch besonders hervorgehoben, daß bei jeder Versuchsreihe eine Kontrollserie mit den gleichen Mengen derselben Komplementverdünnung angestellt wurde, in der statt Ambozeptorverdünnung 1 ccm Kochsalzlösung zugefügt wurde. In diesen Kontrollserien trat niemals auch nur die geringste Hämolyse auf. Diese Kontrollversuche wurden durchgehend ausgeführt, um vor Irrtümern geschützt zu sein, da, wenn auch nur entfernt, doch an die Möglichkeit gedacht werden konnte, daß das an sich für Ziegenblut in Dosen von 0,1 und darunter nicht hämolytische Serum mittelgroßer Meerschweinchen durch das Lagern hämolytische Eigenschaften annehmen könne, vor allem durch Hämolysine der im Serum zur Entwickelung gekommenen Bakterien.

I. Versuche mit flüssig, unter verschiedenen Versuchsbedingungen aufbewahrtem, mit 4 Proz. Kochsalz versetztem Serum.

Zunächst wurden eine Reihe von Versuchen, ausschließlich mit 4-proz. Salzlösung, deren komplementkonservierender Effekt bereits ein recht beträchtlicher war, angestellt, um die Widerstandskraft des Komplementes gegenüber verschiedenen Schädigungen unter gleichen Versuchsbedingungen zu eruieren.

Es wurden zu dem Zweck unter Berücksichtigung der etwa 0,008 g im Kubikcentimeter Serum enthaltenen Salzmenge pro Kubikcentimeter noch 0,032 g NaCl zugesetzt.

1) Einfluß des Tageslichtes auf das Komplement des gesalzenen und ungesalzenen Serums.

Eine Reihe gesalzener und ungesalzener Proben blieben in Reagensröhrchen verkorkt dicht am Fenster des Laboratoriums stehen und waren dem Tages- resp. dem Sonnenlicht dauernd ausgesetzt. Je eine Quote der Sera war außerdem mit $^1/_2$-proz. Phenol versetzt.

Die Komplementabnahme in einem derartigen Serum zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle II.

Komplementtiter des frischen Serums vor Beginn des Versuches gegen 0,005 Ambozeptor 0,008.

Titer nach Tagen	Serum, ungesalzen	Serum, 4-proz., gesalzen
3	0,04	0,01
4	0,06	0,02
5	0,1	0,04
10	0,1	0,1

Bei einem anderen Serum von gleichem Anfangstiter (0,008) verlief die Komplementkurve nach folgenden Werten (Tabelle III).

Hier ist eine beträchtlich bessere Konservierung zu verzeichnen.

Für die Unterschiede in den Werten der beiden Tabellen mögen zum Teil individuelle Schwankungen der Versuchstiere verantwortlich sein. In der Ungleichheit der Lichtverhältnisse zur Zeit der Versuche kann die Differenz nicht bedingt sein; denn gerade in den Tagen der

ersten Versuchsreihe war relativ häufig trübes Wetter, während zur Zeit der Versuchsreihe der Tabelle III die Sonne häufiger schien.

Tabelle III.

Titer nach Tagen	Serum, ungesalzen	Serum, gesalzen
3	0,04	0,01
5	0,1	0,02
6	> 0,1	0,02
7	> 0,1	0,02
10	> 0,1	0,04
13		0,1

Jedenfalls aber ergeben die Versuchsreihen in völliger Uebereinstimmung mit weiteren Reihen, daß unter dem Einfluß des Lichtes der Komplmentgehalt des Normalmeerschweinchenserums, wie das ja allgemein bekannt ist, abnimmt und allmählich völlig schwindet; daß diese Abnahme jedoch bei dem gesalzenen Serum eine sich bedeutend (bis zu 50mal) länger hinziehende ist als beim ungesalzenen.

2) Einfluß höherer Temperaturen auf das Komplement des gesalzenen und ungesalzenen Serums.

Es war von Interesse zu untersuchen, ob analog der höheren Stabilität des gesalzenen Serums gegenüber dem Einfluß des Lichtes sich auch gegenüber thermischen Schädigungen eine ähnliche Widerstandskraft zeige, derart, daß das gesalzene Serum sich etwa gegenüber der Erhitzung auf die in R. zur Vernichtung des Komplements ausreichenden Temperatur wesentlich resistenter verhält. Darüber gibt die folgende Tabelle Aufschluß.

Tabelle IV.

Vom Serum der Tabelle II sind nach 5 Tagen je eine gesalzene und ungesalzene Quote 1 Stunde auf 58° erhitzt.

Danach betrug der Komplementtiter beider Serumquoten:

	Unerhitzt	Erhitzt
Ohne Salz	0,1	> 0,1
Mit Salz	0,04	> 0,1

Ebenso verliefen Versuche, in denen das frisch gewonnene Serum gesalzen und ungesalzen der gleichen Temperatur ausgesetzt war. Eine nennenswerte Erhöhung der Resistenz gegenüber den komplementvernichtenden Temperaturgraden findet also durch die Besalzung mit 4 Proz. Kochsalz nicht statt.

3) Einfluß der Lagerung auf das Komplement des gesalzenen und ungesalzenen Serums.

Da der Komplementgehalt eines Serums nicht nur durch die direkte Wirkung des Tageslichts, sondern auch durch die einfache Lagerung bei Zimmertemperatur im Dunkeln abnimmt, so war es weiterhin interessant, das Verhalten gesalzener zu ungesalzenen Sera unter diesen Verhältnissen zu untersuchen.

Dies zeigt die folgende Tabelle, in der das auch für Tabelle II benutzte Serum (Titer 0,008) verwendet wurde.

Tabelle V.

Titer nach Tagen im Dunkeln	Serum, ungesalzen	Serum, 4-proz., gesalzen
6	0,08	0,008
10	> 0,1	0,01
13	> 0,1	0,01
16	> 0,1	0,02
19	> 0,1	0,08

Wir sehen hier wiederum den komplementkonservierenden Einfluß der konzentrierten Salzlösung, während in 13 Tagen der Titer des gesalzenen Serums fast konstant geblieben ist, hat das ungesalzene seinen Wert in wenigen Tagen bereits völlig verloren.

4) Einfluß der Körpertemperatur auf das Komplement des gesalzenen und ungesalzenen Serums.

In gleicher Weise wiederholt sich hier die oben besprochene Erscheinung. Als Beispiel einer Anzahl völlig gleichdeutig verlaufender Versuche sei hier eine Reihe mit dem auch im vorhergehenden Versuch benutzten Serum angeführt. Die Röhrchen standen dunkel im Brutschrank von 37°.

Tabelle VI. (Titer des frischen Serums 0,008.)

Titer nach Tagen bei 37° im Dunkeln	ungesalzen	gesalzen
3	> 0,1	0,02
5	> 0,1	0,02
6	> 0,1	0,02
10	> 0,1	0,06
13	> 0,1	0,1

5) Einfluß des Phenols auf das Komplement im gesalzenen und ungesalzenen Serum.

Daß das Phenol in der zur Konservierung von Seris üblichen Konzentration von ½ Proz. das Komplement im Gegensatz zum Amboceptor zerstört, ist allgemein bekannt.

Wie verhält sich ein derartiges chemisches Gift im gesalzenen Serum?

Tabelle VII. (Titer vorher 0,008, Sera am Fenster gestanden.)

Titer nach Tagen	Serum ungesalzen	Serum ungesalzen, phenolisiert	Serum gesalzen	Serum gesalzen, phenolisiert
3	0,04	0,06	0,01	0,02
5	> 0,1	> 0,1	0,02	0,08
7	> 0,1	> 0,1	0,02	0,06

Tabelle VIII.
Verhalten des phenolisierten Serums bei Zimmertemperatur im Dunkeln.

Titer nach Tagen	ungesalzen	ungesalzen, phenolisiert	gesalzen	gesalzen, phenolisiert
6	0,06	> 0,06	0,008	0,04
10	> 0,1	> 0,1	0,01	0,08

Das gesalzene Serum erweist sich auch dem Einfluß chemischer Schädigungen (Phenol) gegenüber resistenter als das ungesalzene.

II. Einfluß verschieden hoher Kochsalzkonzentrationen auf die Konservierung des Komplementes.

Die Versuche, über die im Vorstehenden berichtet wird, waren alle mit 4-proz. Kochsalzlösung angestellt worden, in der Absicht, unter sonst gleichen Versuchsbedingungen (also gleiche Salzkonzentrationen) den Grad der Schädigungen der verschiedenen vorher behandelten Faktoren auf das Komplement zu erkennen. Es erschien jedoch praktisch und vor allem auch theoretisch von Interesse, unter den jeweiligen Versuchsbedingungen diejenige Kochsalzkonzentration festzustellen, welche die optimale Komplementkonservierung garantiert. Um diese Kochsalzkonzentration für die Konservierung des Komplementes zu eruieren, wurden gleiche Mengen des Komplementserums mit verschiedenen Kochsalzmengen in Substanz versetzt, so daß 15—0,8-proz. Salzlösungen resultierten. Stets unmittelbar vor der Bestimmung des Komplementgehaltes der einzelnen Proben wurde bis zur Isotonie verdünnt.

1) Einfluß des Tageslichtes auf den Komplementgehalt von Seris verschiedener Salzkonzentration.

Die Proben aus ein und derselben Mischung verschiedener Sera standen am Fenster; während der ganzen Versuchszeit viel Sonnenschein. Titer des Mischserums vor Beginn des Versuches 0,01 gegen 5 mg Ambozeptor.

Die Komplementabnahme in den verschiedenen stark gesalzenen Serumquoten zeigt die folgende Tabelle IX.

Tabelle IX. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Tagen	Salzgehalt des Serums in Prozenten					
	15	8	6	4	2	0,8
6	0,02	0,02	0,02	0,06	0,08	0,01
10	0,02	0,02	0,03	0,07	>0,1	>0,1
15	0,06	0,08	0,1	0,1	>0,1	>0,1

2) Einfluß höherer Temperatur auf den Komplementgehalt von Seris verschiedener Salzkonzentration.

a) Einfluß der Temperatur von 37°.

Die bereits 3 Tage am Fenster gelagerten Serumquoten wurden in den Brutschrank gebracht. Die Komplementabnahme zeigt die folgende Tabelle X.

Tabelle X. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Stunden 37°	Salzgehalt des Serums in Prozenten						
	15	10	8	6	4	2	0,8
7	0,02	0,04	0,04	0,06	0,06	>0,08	—
14	0,05	0,08	0,08	0,08	0,08	>0,1	>0,1

b) Einfluß höherer Temperaturen.

Eine wesentlich höhere Resistenz gegen die zur völligen Inaktivierung der Sera i. R. verwendeten Temperaturen wurde durch den höheren Salzgehalt nicht erreicht.

Tabelle XI.

Von einem Serum mit dem Titer 0,01 wird eine Quote mit 8, eine zweite mit 4 Proz. Kochsalz versetzt; eine dritte bleibt ohne Kochsalz. Nach 1-stündiger Erwärmung auf 60° war die Zerstörung des Komplementes gleichmäßig in allen 3 Portionen; wenigstens wirkten Mengen von 0,1 nicht mehr komplettierend.

3) Einfluß der Lagerung im Dunkeln auf den Komplementgehalt von Serumquoten verschiedener Salzkonzentration.

a) Aufbewahrung bei Zimmertemperatur.

Tabelle XII. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Tagen	Salzgehalt des Serums in Prozenten						
	15	10	8	6	4	2	0,8
12	> 0,06	> 0,08	0,02	0,02	0,1	> 0,1	> 0,1
22	> 0,08	> 0,08	0,06	0,02	> 0,1	> 0,1	> 0,1
29				0,04			

b) Aufbewahrung bei Eisschranktemperatur.

Tabelle XIII. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Tagen	Salzgehalt des Serums in Prozenten						
	15	10	8	6	4	2	0,8
12	0,02	0,02	0,02	0,04	> 0,08	> 0,1	> 0,1
22	0,06	0,06	0,04	0,08	> 0,1	> 0,1	> 0,1
27			0,04				

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß mit zunehmender Salzkonzentration die Komplementzerstörung im Serum bis zu einem gewissen Grade proportional abnimmt. Wir finden jedoch keineswegs ein ganz gleichmäßiges Verhalten. Namentlich bei Zimmertemperatur und bei Eisschranktemperatur scheint die optimale Wirkung durch 6—8 Proz. Salz erzielt zu sein, während unter 6 Proz. der Effekt regelmäßig bedeutend geringer ist. Für die Praxis dürfte es sich empfehlen, zur Konservierung von Komplementseris allgemein 8 Proz. Kochsalz zu verwenden. Durch Verdünnung mit der 10-fachen Menge des destillierten Wassers erhält man dann auch am bequemsten die isotonische Lösung für Zwecke des hämolytischen Versuchs.

III. Ueber die Dauerhaftigkeit des in hypertonischer Salzlösung konservierten Komplements nach Verdünnung des Serums bis zur Isotonie.

Gelegentlich der Versuche, welche in den Tabellen XII und XIII niedergelegt sind, wurde eine höchst merkwürdige Beobachtung über die Haltbarkeit der Komplemente aus konzentrierten Lösungen nach erfolgter Verdünnung bis zur Isotonie gemacht. Als von der Quote des Serums, die 27 Tage lang mit 8 Proz. Kochsalz im Eisschrank sich erhalten hatte (Tabelle XIII), ein Teil mit destilliertem Wasser zum Salzgehalt von 0,8 verdünnt wurde, verschwand das Komplement sehr schnell vollständig aus dem Serum, während es in einer Kontrollprobe, die erst unmittelbar vor dem Zusatz von Ambozeptor und Blutkörperchen verdünnt wurde, quantitativ erhalten war.

Tabelle XIV.

Von dem mit 8-proz. Kochsalz versetzten 27 Tage alten Serum wird ein Teil mit destilliertem Wasser verdünnt, auf 0,8 Proz. Salz, ein anderer Teil bleibt unverdünnt. Beide Proben kommen auf 10 Stunden in den Eisschrank. Danach wird auch die zweite Probe entsprechend der ersten verdünnt und es erfolgt Zusatz von Ambozeptor und Komplement. Nachstehend folgen die Werte des Komplementes für beide Partieen des Serums.

Komplementdosis	Die Verdünnung bis zur Isotonie hat stattgefunden vor Zusatz des hämolytischen Systems	
	unmittelbar	vor 10 Stunden
0,08	komplett	0
0,06	"	0
0,04	"	0
0,02	Hauch	0

In ganz analoger Weise verlief ein Versuch mit der 6-proz. Serumquote aus Tabelle XII (Serum im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt). Der Versuch wurde mit dem 26 Tage alten Serum ausgeführt. Wie die nachstehende Tabelle XV ergibt, ist bereits innerhalb eines Zeitraumes von 5 Stunden bei Verdünnung zur Isotonie das Komplement vollständig zerstört, während es in der unverdünnten Quote vollständig erhalten geblieben ist.

Tabelle XV.

Komplementdosis	Die Verdünnung zur Isotonie hat stattgefunden vor Zusatz des hämolyt. Systems		
	unmittelbar	5 Stunden	8 Stunden
0,08	komplett	Hauch	Kuppe
0,06	"	Kuppe	"
0,04	"	0	0
0,02	Hauch	0	0

IV. Ueber die Konservierung des Komplements in verdünnten Seris.

Ganz anders als bei nachträglicher Verdünnung der Sera aus hypertonischen Lösungen verhält sich das Komplement bezüglich seiner Dauerhaftigkeit, wenn man das native Serum unmittelbar mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt aufbewahrt. Dabei ergibt es sich, daß die Komplementerhaltung genau proportional der Verdünnung des Serums geht, derart, daß verdünnte Sera die Komplemente länger bewahren als unverdünnte. Ein derartiger Versuch aus einer ganzen Reihe übereinstimmender sei hier mitgeteilt:

Von ein und derselben Serummischung vom Anfangstiter 0,01 werden gleiche Mengen mit steigenden Mengen von physiologischem Kochsalz versetzt, so daß 2-, 4-, 10-, 20- und 30-fache Verdünnungen resultierten. Die Sera blieben bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt und wurde von Zeit zu Zeit auf die Abnahme ihres Komplementgehaltes titriert.

Tabelle XVI. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Tagen	Verdünnung des Serums mit physiologischer Kochsalzlösung					
	1/0	1/1	1/5	1/10	1/20	1/30
3	0,08	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03
6	> 0,1	> 0,1	0,08	0,08	0,05	0,04
12	—	—	> 0,1	> 0,1	0,1	0,1

In ganz analoger Weise verlief der Versuch, wenn die Verdünnung nicht mit physiologischer Kochsalzlösung, sondern mit konzentrierter Kochsalzlösung vorgenommen wurde, daß 4-proz. Lösungen resultierten. Freilich war die relative Haltbarkeit des Komplementes in den einzelnen Quoten eine bedeutend längere. Aber auch hier sehen wir wiederum, was übrigens auch schon Buchner bei seinen Alexinversuchen gesehen hatte, daß die absoluten Werte um so günstiger waren, je stärker die Verdünnung des Serums mit 4-proz. Lösung war.

Tabelle XVII.

Titer nach Tagen	Verdünnung des Serums mit Kochsalz zur 4-proz. Lösung				
	0-fach	2-fach	4-fach	6-fach	12-fach
2	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
6	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
12	0,02	—	0,02	0,02	0,02
19	0,06	—	0,04	0,04	0,02
27	> 0,1	0,1	0,04	0,04	0,02

V. Der Einfluß verschiedener anderer Salze auf die Konservierung des Komplementes.

Außer dem Kochsalz wurde noch eine Reihe anderer Salze bezüglich ihrer Brauchbarkeit zur Komplementkonservierung untersucht. Um brauchbare Vergleichswerte mit den Kochsalzversuchen zu erhalten, wurde so viel von den einzelnen Salzen zugesetzt, daß durchgehends 10-fache isotonische Lösungen erzielt wurden. Die Berechnung geschah auf 0,8-proz. Kochsalzlösung nach den auf Grund des de Vriesschen Koeffizienten bestimmten Werten. Das Salz wurde zu dem 2 Tage alten Meerschweinchenserum zugesetzt. Die Proben wurden bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt und von Zeit zu Zeit untersucht, nachdem unmittelbar vor jedem Versuch die Verdünnung bis zur Isotonie erfolgt

Tabelle XVIII.

Einfluß einer Reihe anorganischer Salze in 10-fach isotonischer Lösung auf die Konservierung des Komplementes.

Salz	Prozentgehalt zur Isotonie	Menge des Salzes auf 5 ccm Serum z. Erzeugung der 10-fachen Isotonie	Komplementtiter (vor Salzzusatz [Serum 2 Tage alt] 0,02)				
			8 Std. n. Salzzusatz	3 Tage	8 Tage	17 Tage	26 Tage
Kaliumnitrat	1,37	0,685	0,02	0,04	0,06	0,06	0,07
Natriumchlorid	0,80	0,40	0,03	0,04	0,05	> 0,06	> 0,1
Kaliumsulfat	1,55	0,775	0,02	0,03	0,04	> 0,1	> 0,1
Kaliumacetat	1,43	0,715	0,05	0,05	0,06	> 0,1	> 0,1
Kaliumoxalat *	1,67	0,845	0,03	0,03	0,06	> 0,1	> 0,1
Magnesiumsulfat * mit Kristallwass.	4,69	2,345	> 0,08	> 0,1	> 0,1	0,06	> 0,1
Magnesiumsulfat * ohn. Kristallwass.	2,45	1,225	> 0,08	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Chlorcalcium *	1,14	0,57	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Kaliumjodat	2,28	1,14	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Natriumjodat	2,5	1.02	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Kaliumbromat	1,62	0,81	0,05	0,05	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Natriumbromat	1,41	0,705	0,05	> 0,1	0,08	> 0,1	> 0,1
Magnesiumchlorid	2,11	1,055	0,06	0,1	0,1	> 0,1	> 0,1
Bariumchlorid *	2,49	1,245	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1

war. Einige der Salze, die in der Tabelle mit einem Stern bezeichnet sind, lösten sich nicht vollkommen bei der angewandten Konzentration im Serum auf, doch wurden sie jedesmal vor dem Versuch durch stärkeres Schütteln gleichmäßig im Serum suspendiert. Bei der Verdünnung um das 10-fache Volumen zur Herstellung der isotonischen Lösung erfolgte dann natürlich prompte Lösung.

Wie sich aus der Tabelle ergibt, sind eine Reihe anorganischer Salze imstande, schon in wenigen Stunden das Komplement zu zerstören, d. s. Magnesiumsulfat, Chlorcalcium, Kaliumjodat, Natriumjodat und Bariumchlorid. Am günstigsten gestaltet sich der konservierende Effekt bei Kaliumsulfat, Kaliumoxalat, Kaliumacetat und Kaliumnitrat, annähernd gleich günstig bei Kaliumchlorid.

Buchner hatte einen bedeutend günstigeren Einfluß der Sulfate im Vergleich zu den Nitraten und Chloriden bei seinen Alexinversuchen beobachtet. Bei meinen Versuchen tritt eine derartige Differenz z. B. zwischen Kaliumsulfat und Kaliumnitrat nur in sehr geringem Grade hervor. Der Unterschied dürfte im wesentlichen darauf beruhen, daß Buchner mit Aequivalentlösungen arbeitete, während ich isotonische Lösungen an Stelle der Aequivalentlösungen verwandte.

Es liegt nahe, die größere Dauerhaftigkeit des gesalzenen Serums auf eine Hemmung des Bakterienwachstums in den betreffenden Quoten zurückzuführen. Dafür liefern jedoch die mit den einzelnen Kochsalzserumproben angestellten Züchtungsversuche keinerlei Anhaltspunkte; sowohl in gesalzenen wie ungesalzenen Serums waren durch Züchtungsversuche annähernd gleichviel Bakterien und etwa die gleichen Arten nachweisbar. Bald etwas mehr in gesalzenen, bald etwas mehr in ungesalzenen. In einem Fall war ein ungesalzenes, bei 37° aufbewahrtes Serum nach 5 Tagen völlig steril. Die gesalzene Probe (NaCl 8 Proz.) des gleichen Serums wies üppiges Bakterienwachstum auf. Trotzdem hat das Salzserum einen Komplementtiter von 0,02, das ungesalzene von $>0{,}1$. Daß nun auch ihrerseits nicht die üppige Bakterienentwickelung etwa ein fremdes Hämolysin bakteriellen Ursprungs gerade in den gesalzenen Röhrchen zur Entwickelung kommen ließ, dafür sprechen die Kontrollversuche ohne Ambozeptor, die, wie bereits in der Einleitung hervorgehoben ist, stets absolut ungelöst sind. Auch die Tatsache, daß in den phenolisierten Proben, die kein oder nur sehr spärliches Wachstum zeigten, die Komplemente gerade am schnellsten zerstört wurden, spricht gegen diese Deutung. Die gesteigerte Hämolyse, die bei unserer Versuchsanordnung in den mit gesalzenem Serum versetzten in Proben hervortrat, ist also ausschließlich auf den Komplementgehalt dieser Sera zurückzuführen.

Eine Erklärung für die eigentümliche konservierende Wirkung der Salze ist durch die Ausführungen in der interessanten Arbeit von Sachs und Teruuchi gegeben. Diese Autoren nehmen an, daß im Serum ein fermentartiger Stoff vorhanden ist, der auf die Komplemente einen schädigenden Einfluß ausübt.

Diese Annahme, die auch durch Tsuda, der die Befunde dieser Autoren bestätigen konnte, keine Widerlegung erfahren hat, ist mit meinen Versuchsergebnissen sehr wohl in Einklang zu bringen. Es ist anzunehmen, daß durch den starken Salzzusatz zu dem Serum dieses komplementozide Ferment in seiner Tätigkeit gehemmt wird. Vernichtet wird es durch Besalzung nicht, hält sich vielmehr offenbar auch bei der

langen Lagerung nahezu ungeschwächt. Dafür spricht die Tatsache, daß das mit Salz konservierte Serum nach erfolgter Verdünnung bis zur Isotonie ungemein schnell seinen Komplementgehalt verliert, wie dieses die Tabellen XIV und XV dartun. Daß die Zerstörung des Komplementes in diesen Reihen nicht bereits während der für die Dauer der Hämolyse nötigen Zeit auch in den Kontrollversuchen schon sich deutlicher bemerkbar macht, dafür haben Sachs und Teruuchi gleichfalls eine befriedigende Erklärung gegeben. Sie fanden, daß die Gegenwart des Ambozeptors einen Schutz für die Zerstörung des Komplementes bedeutet.

Mit der Annahme besonderer komplementozider Fermente im Serum sind auch die nunmehr folgenden Versuche vollkommen im Einklang, welche zeigen, daß durch Eintrocknung der Sera gleichfalls eine Konservierung des Komplementes erzielt wird.

Wir müssen annehmen, daß auch hierbei die Konservierung darauf beruht, daß nach einmal erfolgter Eintrocknung das komplementzerstörende Ferment an seiner Wirkung gehindert ist.

VI. Versuche über die Komplementkonservierung in getrockneten Seris.

Zu diesen Versuchen wurden die Proben in Esmarch-Schälchen teils an der Luft, teils im Exsikator über Schwefelsäure am Fenster und im Dunkeln aufbewahrt. Zu verschiedenen Zeiten nach erfolgter Eintrocknung wurden die Proben in entsprechendem Verhältnis (s. vorne) in Kochsalzlösung und destilliertem Wasser gelöst[1]) und auf ihren Komplementgehalt genau wie die flüssigen Sera austitriert.

Versuche mit an der Luft getrocknetem Serum.

1) Einfluß des Tageslichts auf den Komplementgehalt des getrockneten Serums.

Die Proben, die am Fenster in offenen Schalen standen, waren meist bereits nach 12—18 Stunden völlig eingetrocknet. Die folgende Tabelle zeigt die Komplementabnahme in einem derartigen Serum.

Tabelle XIX. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Tagen	ungesalzen	gesalzen
18 Stunden	0,04	0,02
2 Tage	0,04	0,02
5 „	>0,1	>0,1

Tabelle XX. (Anfangstiter 0,008.)

Titer nach Tagen	ungesalzen	gesalzen
3	0,04	0,02
5	>0,1	>0,1

Die offen am Fenster getrockneten Sera zeigen einen relativ schnellen Schwund ihres Komplements, der größer ist als bei flüssig aufbewahrten. Der konservierende Einfluß des Salzes tritt nur in geringem Grade hervor.

1) Die Lösung vollzog sich stets glatt.

2) Einfluß der Lagerung auf den Komplementgehalt des getrockneten Serums.

Die betreffenden Serumproben waren mit den flüssigen zusammen in einem dunkeln Schrank bei Zimmertemperatur (18°) gestanden.

Tabelle XXI. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Tagen	ungesalzen	gesalzen
1	0,04	0,02
2	0,04	0,02
6	0,04	0,04

Ein gesalzenes Serum, das flüssig aufbewahrt, nach 6 Tagen noch den Ursprungstiter von 0,008 zeigte, hatte also getrocknet nur noch einen Titer von 0,04.

Die Abnahme des Komplementgehaltes ist danach auch hier gegenüber den flüssig aufbewahrten Seris eine ziemlich beträchtliche.

Die Abnahme erfolgt aber im wesentlichen während der Eintrocknung selbst und namentlich hält sich bei getrockneten Seris der Rest des Komplementes außerordentlich lange. Noch nach 5 Monaten zeigten derartige Proben einen Titer von 0,08.

3) Einfluß der Trocknung bei höheren Temperaturen auf den Komplementgehalt des Serums.

Werden die Komplementsera in offenen Schalen bei einer Temperatur von 37° zum Trocknen aufgestellt, so verschwindet der Komplementgehalt innerhalb 12 Stunden fast völlig. Ein Serum mit dem Anfangstiter von 0,01 zeigte unter diesen Versuchsbedingungen getrocknet und nach 12 Stunden wieder gelöst nur noch einen Titer von 0,1. Durch die Einwirkung der Temperatur von 60° während einer Zeit von 12 Stunden wird das Komplement des Serums natürlich völlig vernichtet.

Versuche mit im Exsikator getrocknetem Serum.

1) Einfluß des Tageslichtes auf den Komplementgehalt der im Exsikator aufgestellten Serumproben.

Tabelle XXII. (Anfangstiter 0,008.)

Titer nach Tagen	ungesalzen	gesalzen
3	0,04	0,02
5	—	0,04
6	—	0,04

Bei der Aufbewahrung im Exsikator erfolgt zu Anfang etwa die gleiche Komplementschwächung wie bei den offen zum Trocknen aufgestellten Proben, jedoch wird das Komplement im ganzen länger konserviert als durch die einfache Trocknung bei Zimmertemperatur, durch die nach 5 Tagen auf jeden Fall das Komplement so gut wie völlig vernichtet wird.

2) Einfluß der Lagerung im Dunkeln im Exsikator bei Zimmertemperatur auf das Komplement.

Das in diesen Versuchen benutzte Serum ist das gleiche wie in Versuch Tabelle XXI verwandte. Die Trocknung erfolgte in demselben

Tabelle XXIII. (Anfangstiter 0,01.)

Titer nach Tagen	ungesalzen	gesalzen
5	—	0,02
6	—	0,02
11	0,02	—

dunklen Raum. Die Konservierung im Exsikator ist auch hier wieder eine längere als die offen an der Luft.

3) Einfluß höherer Temperaturen auf den Komplementgehalt der im Exsikator aufbewahrten Serumproben.

Es ist bereits erwähnt, daß bei einer Trocknung der Sera bei Körpertemperatur selbst wenn sie gesalzen sind der Komplementgehalt in kürzester Frist schwindet, während flüssige Sera bei 37°, sofern sie gesalzen sind, relativ lange ihre komplementierende Fähigkeit bewahren. Ebenso wie an der Luft verlieren Sera auch im Exsikator bei der Eintrocknung bei Temperaturen von 37° resp. 60° sehr schnell ihre Komplemente.

Dagegen habe ich in einer großer Zahl von Versuchen immer wieder die bemerkenswerte Beobachtung erheben können, daß einmal, sei es an der Luft oder im Exsikator bei niedereren Temperaturen getrocknete Sera nunmehr gegenüber der Einwirkung höherer Temperaturen außerordentlich resistent sind. Derartige Sera, sofern sie nur ganz trocken sind, vertragen die Einwirkung einer Temperatur von mindestens 64° durch $1^1/_2$ Stunden, ohne eine nachweisbare Abnahme ihres Komplementgehalts zu erfahren. Selbst bei einer 14-stündigen Einwirkung einer Temperatur von 60° tritt kein völliger Schwund, nur eine Abnahme des Komplementgehalts um etwa die Hälfte ein.

Wenn bei der Trocknung überhaupt zwischen gesalzenen und ungesalzenen Seris kein wesentlicher Unterschied bestand, so fehlt er gänzlich bei der Einwirkung der höheren Temperaturen, gegenüber denen gesalzene und ungesalzene Sera sich gleichmäßig verhalten. Die nachfolgenden Tabellen bringen einen Beleg für die eben dargestellten Tatsachen, die in zahlreichen Versuchen völlig eindeutig immer wieder zu Tage traten.

Erhitzung der Sera nach der Trocknung.

Die auf die verschiedene Weise getrockneten Sera wurden Temperaturen, die zwischen 58—64° in den einzelnen Versuchen schwankten, ausgesetzt und dann mit entsprechenden unerhitzten Kontrollen verglichen. Die Erhitzung geschah im Trockenschrank.

Tabelle XXIV.

Von einem 6 Tage alten im Dunkeln bei Zimmertemperatur offen getrockneten Serum (Anfangstiter 0,01) wird eine gesalzene und ungesalzene Quote je 1 Stunde auf 60° erhitzt und mit je einem gleichalten unerhitzten Serum derselben Provenienz bezügl. Komplementgehalts verglichen.

	unges. unerhitzt	unges. erhitzt	ges. unerhitzt	ges. erhitzt
Titer des 6-tägigen Serums	0,04	0,06	0,04	0,06



Tabelle XXV.

Von einem 3 Tage alten offen bei Zimmertemperatur getrockneten Serum (Anfangstiter 0,008) wird eine gesalzene und ungesalzene Quote $1^1/_4$ Stunde auf 64° erhitzt und zusammen mit unerhitzten Kontrollproben ausgewertet.

	unges. unerhitzt	unges. erhitzt	ges. unerhitzt	ges. erhitzt
Titer des 3-tägigen Serums	0,02	0,06	0,02	0,06

Wir sehen aus diesen Tabellen, daß durch die Erhitzung des Serums zwar kein Verschwinden des Komplements, aber doch eine Abnahme eintritt.

Die Schwächung ist jedoch ausschließlich darauf zurückzuführen, daß die offen aufbewahrten Sera bei dem relativ hohen Feuchtigkeitsgehalt der Laboratoriumsluft nie absolut trocken sind. Ganz anders verhalten sich nämlich die Exsikator-Sera, über die die nachfolgenden Tabellen Aufschluß geben.

Während die 1—2 Tage im Exsikator gehaltenen Sera ähnlich wie die offen getrockneten eine geringe Abnahme des Komplementgehalts durch die Erhitzung zeigten, weisen die längere Zeit bis zur Gewichtskonstanz sorgfältig getrockneten eine bedeutend höhere Resistent des Komplements gegenüber der Erhitzung auf. Für den Einfluß des erwähnten Faktors auf die Komplementabnahme spricht auch der folgende Versuch.

Tabelle XXVI.

2 im Exsikator bei Licht gehaltene gesalzene Proben (6 Tage alt, Anfangstiter 0,008) werden $1^1/_4$ Stunden auf 63° erhitzt, nachdem die eine Probe zuvor durch zweimaliges Anhauchen leicht angefeuchtet worden ist. Trotzdem die hierbei auf dem Serum kondensierte Flüssigkeitsmenge nur sehr gering gewesen sein kann und bei der Temperatur von 63° schnell verdunstet sein muß, so hat sich doch der Komplementgehalt dieser Serumprobe gegenüber der absolut trockenen verringert. $> 0{,}08 : 0{,}06$.

Das Verhalten völlig getrockneter Sera zeigen die folgenden Tabellen.

Tabelle XXVII.

Je eine im Zimmer am Fenster im Exsikator getrocknete Probe eines gesalzenen Serums vom Anfangstiter 0,01 wird 3, resp. 4 Tage alt $^3/_4$ Stunden auf 58° erhitzt und dann zusammen mit einer gleichbehandelten unerhitzten Probe ausgewertet.

Titer nach Tagen	Serum unerhitzt	Serum erhitzt
3	0,04	0,04
4	0,04	0,04

Tabelle XXVIII.

Eine im Zimmer dunkel im Exsikator getrocknete 4 Tage alte Probe desselben Serums wird ebenso behandelt und zusammen mit einer entsprechenden Kontrollprobe ausgewertet.

Titer des Serums	unerhitzt	erhitzt
	0,02	0,02

Tabelle XXIX.

Von 2 ungesalzenen Proben desselben Serums (s. Tab. XV, XVI) wird nach 11-tägigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur im Dunkeln die eine $1^1/_4$ Stunden auf 63° erhitzt und zusammen mit der unerhitzten auf Komplementgehalt geprüft.

Titer des 11-tägigen Serums	unerhitzt	erhitzt
	0,02	0,04

Aus diesen aus einer Reihe von gleichartigen Versuchen herausgegriffenen Tabellen ergibt sich also, daß ein absolut trockenes Serum selbst die $1^1/_4$-stündige Erhitzung auf 63° ohne Einbuße an Komplement verträgt.

Erst bei einer 14-stündigen Einwirkung der Temperatur von 60° tritt eine deutliche Abnahme, aber auch noch keineswegs ein völliger Schwund des Komplements bei einem gut getrockneten Serum ein, und zwar nach dem, was oben auseinander gesetzt ist, eine stärkere Verminderung bei dem offen getrockneten Serum im Vergleich zum Exsikatorserum, wie noch der folgende Vergleichsversuch zeigt.

Tabelle XXX.

Gesalzene und ungesalzene Proben eines 6 Tage im Dunkeln offen gestandenen getrockneten Serums (Anfangstiter 0,008) werden 14 Stunden auf 58° erhitzt und zusammen mit unerhitzten Kontrollen ausgewertet.

Titer des 6-tägigen Serums	ungesalzen		gesalzen	
	unerhitzt	erhitzt	unerhitzt	erhitzt
	0,04	0,08	0,04	0,08

Tabelle XXXI.

Quoten desselben Serums, die gesalzen im Exsikator bei Zimmertemperatur gleich lange dunkel standen, werden ebenso behandelt.

Titer des Serums	unerhitzt	erhitzt
11 Tage	0,02	0,04

Literatur.

Brand, Berl. klin. Wochenschr. 1907.
Buchner, Arch. f. Hyg. Bd. XVII.
Ferrata, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 13.
Hektoen, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV. p. 357.
Hektoen and Rüdiger, Journ. of infect. diseases. Vol. I. p. 374.
Sachs und Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 16.
Tsuda, Ibid. 1908. No. 8.

Beschleunigung und Verstärkung der Bakterienagglutination durch Antieiweisssera.

[Aus der bakteriologisch-hygienischen Abteilung (Prof. M. Neisser) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh.-Rat. Prof. P. Ehrlich).]

Von Privatdozent Dr. C. **Moreschi** aus Pavia.

Friedberger und Moreschi[1]) haben auf dem internationalen Kongreß für Hygiene zu Berlin (1907) auf eine eigenartige Beschleunigung der Hämolyse hingewiesen, die eintritt, wenn man zu einem hämolytischen System oder aber zu spezifisch sensibilisierten Blutkörperchen ein weiteres Antiserum hinzufügt, nämlich ein Antiserum, das gegen das Serum derjenigen Tierspecies wirksam ist, von dem das hämolytische

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907.

Immunserum gewonnen war. Ich berichtete auf demselben Kongreß über eine analoge Versuchsanordnung, die zur Blutkörperchen-Agglutination[1]) auch dann führte, wenn jedes der beiden Sera auch in vermehrter Dosis nicht die geringste Spur Agglutination hervorrief. Diese Entdeckung einer Agglutination durch an sich nicht agglutinierende Sera schien mir aus theoretischen und praktischen Gründen wichtig genug, um dies Prinzip der Kettenbindung zweier verschiedener Sera auch für Bakterien zu versuchen. Die Versuchsanordnung war die gleiche: Bakterien waren mit ihrem Antiserum zu versetzen und nach eingetretener Bindung durch gründliches Waschen von dem Ueberschuß zu befreien; danach mußte Zusatz eines Antiserums erfolgen, das mit dem Serum derjenigen Tierspecies gewonnen war, von der das Antibakterienserum stammte. Es kamen also stets 2 Antisera nacheinander zur Verwendung, von denen das erste mit Bakterien von der Tierspecies I gewonnen war (Antigen: Bakterien, Antiserum: von Tierspecies I), während das zweite mit dem Serum der Species I bei einem Tier der Species II hergestellt war (Antigen: Serum von Species I, Antiserum: von Species II). Ich werde im folgenden das Antibakterienserum stets Immunserum, das zweite Serum Antieiweißserum nennen.

Für diese Versuche war es, wie ich besonders hervorhebe, anfangs wichtig, das Antieiweißserum vor dem Versuch mit der betreffenden Bakterienart zu absorbieren, um die Normalagglutinine etc. zu entfernen, die eine Beschleunigung der Agglutination infolge Summation der Wirkungen vortäuschen können.

An Immunseris gelangten zur Verwendung:
1 Typhusserum (Ziege)
1 Choleraserum (Ziege)
6 Typhussera (Mensch);
die entsprechenden Antieiweißsera waren:
5 Antiziegensera (Kaninchen)
4 Antimenschensera (Kaninchen).
Als Bakterienstämme benutzte ich:
1 Typhusstamm (Frankfurt)
1 Dysenteriestamm (Frankfurt)
1 Cholerastamm (Pfeiffer).

I. Versuch.

Je eine Oese Typhusbacillen wird mit abfallenden Mengen Typhusimmunserum (Ziege) versetzt, nach 2 Stunden (30°) zentrifugiert, mit physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt, noch einmal zentrifugiert und mit NaCl-Lösung aufgefüllt. Danach Zusatz von 0,04 ccm Antiziegenserum (Kaninchen) Tabelle A.

Tabelle A.

Menge des Typhusimmunserums	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	5 Stunden
0,01	+++	+++	+++	+++
0,0075	++	+++	+++	+++
0,005	+	++	+++	+++
0,0025	+	++	++	+++
0,0015	0	+	+	++
0,001	0	0	+	++
0,00075	0	0	0	+
0,0005	0	0	0	+
0,00025	0	0	0	+?
0,00015	0	0	0	0

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. 1. Orig. Bd. XLVI. 1908.

II. Versuch.

Das Antiziegenserum (Kaninchen) wurde vorher mit Typhusbacillen versetzt und zentrifugiert. Es zeigte sich kein Unterschied in der verstärkenden Wirkung gegenüber dem nicht vorbehandelten Antiziegenserum; die verstärkende Wirkung beruht also **nicht** auf einem Stoffe des Antiziegenserums, der eine direkte Affinität zum Typhusbacillus hätte. Als aber das Antiziegenserum mit Typhusbacillen versetzt wurde, die vorher mit Typhusimmunserum behandelt waren, hatte es nach der Abzentrifugierung seine verstärkende Wirkung erheblich verloren.

III. Versuch.

Es war der Einwand denkbar, daß trotz Waschens eine gewisse Menge des Typhusserums (Ziege) zurückgeblieben war, das nun mit dem Antiziegenserum (Kaninchen) eine Präzipitation in der Flüssigkeit und mechanisches Mitreißen der Typhusbacillen verursachte. Das hätte dann natürlich auch eintreten müssen, wenn statt Typhusbacillen eine andere Bakterienart vorhanden war. Der Versuch zeigte die Spezifität.

Antiziegenserum (Kaninchen)	Typhusimmunserum	Typhusbacillen	Dysenteriebacillen	Choleravibrionen
0,05	$^1/_{600}$ ccm	+++	0	0
0,025		++	0	0
0,015		++	0	0
0,005		+	0	0
0,0025		0	0	0
0,001		0	0	0

IV. Versuch.

Mit dem **Vibrio cholerae** und einem Immunserum (Ziege), das bei Zusatz von 0,04 ccm Normalkaninchenserum nur bis 0,025 + und 0,015 + ? agglutinierte, gelang die Agglutination bei Zusatz von Antiziegenserum (Kaninchen) bis 0,005 + und 0,0025 + ?.

V. Versuch.

Erhitzung des Antiziegenserums (Kaninchen) auf 72° zerstört seine agglutinationsbefördernde Wirkung.

VI. Versuch.

Versuch mit Menschentyphusserum.

In allen Röhrchen $^1/_{40}$ ccm Menschentyphusserum + 1 Oese Typhusbacillen + Antimenschenserum (Kaninchen) bezw. Normalkaninchenserum.

Antimenschenserum	Normalkaninchenserum	Agglutination nach 15 Minuten		30 Minuten		60 Minuten		120 Minuten	
0,1	0,1	+++	0	+++	0	+++	+	+++	++
0,05	0,05	+	0	++	0	+++	+	+++	++
0,025	0,025	0	0	0	0	+	+	++	++
0,01	0,01	0	0	0	0	+	+	++	++

VII. Versuch.

Austitrierung von 6 Menschentyphusseris auf die gewöhnliche Art und mit Zusatz von Antimenschenserum.

	Titer der Agglutination bei Zusatz von 0,05 Normalkaninchenserum	0,05 Menschenkaninchenserum	
Menschentyphusserum I	1 : 40 = +	1 : 640 = +	1 : 1280 = + ?
„ II	1 : 160 = +	1 : 1280 = +	
„ III	1 : 320 = ++	1 : 5120 = +	
	1 : 640 = 0		
„ IV	1 : 160 = + ?	1 : 1200 = + ?	
„ V	1 : 80 = + ?	1 : 640 = +	
	1 : 100 = +	1 : 200 = +++	
„ VI	1 : 200 = + ?	1 : 1000 = + ?	

Die Methode der Agglutinationsprüfung war die Kollesche.

Ich erwähne noch, daß von den vier Antiziegenseris nur zwei eine ausgesprochen beschleunigende resp. verstärkende Wirkung zeigten.

An Details möchte ich ferner erwähnen, daß die benutzten Antimenschensera sehr verschieden wirksam waren, und daß auch die wirksamen Sera ihre Kraft bei langem Stehen bei Zimmertemperatur allmählich einbüßten, während sie sie bei Konservierung im Eisschrank behielten.

Weiterhin möchte ich darauf hinweisen, daß die beschriebene Erscheinung bei schwer agglutinablen Stämmen viel deutlicher ist als bei Stämmen, die schon an sich leicht agglutinabel sind. So war die verstärkende Wirkung der Kettenbindung besonders eklatant und wichtig bei einem sehr schwer agglutinablen Typhusstamm, der uns zufällig gerade in dieser Zeit in die Hände kam, und dessen Diagnose Schwierigkeiten machte. Dieser Stamm, über den an anderer Stelle noch berichtet werden wird, zeigte mit einem sehr hochwertigen Ziegenimmunserum keine Werte, wie sie für die spezifische Diagnose notwendig waren; bei Anwendung der Kettenbindung trat noch bei großen Serumverdünnungen starke Agglutination ein, wie die folgende Tabelle zeigt:

Verstärkung der Agglutination eines agglutininfesten Typhusstammes.

Menge des Immunserums (Ziege)	Agglutination bei Zusatz von 0,05 Antiziegenserum (Kaninchen)	Agglutination ohne Zusatz von Antiziegenserum
0,02	+++	+
0,01	+++	0
0,005	+++	0
0,0025	+++	0
0,0012	+++	0
0,0006	+++	0
0,0003	++	0

Kontrolle 0,1 Ziegenkaninchenserum : Agglutination 0.

Die kurz hier wiedergegebenen Tatsachen zeigen, daß die an Blutkörperchen von mir entdeckte Erscheinung auch für Bakterien gültig ist; es wird weiterer Versuche bedürfen, um festzustellen, inwieweit die von Friedberger und mir angegebene Versuchsanordnung der Kettenbindung berufen ist, bei der Agglutination schwer agglutinierbarer Bakterien resp. Bakterienstämme oder aber bei der Auswertung von Immunseris eine Rolle zu spielen. Eine definitive Erklärung der von mir beobachteten Agglutination möchte ich noch nicht geben; zunächst möchte ich annehmen, daß es sich um einen Präzipitationsvorgang handelt, in dem die sämtlichen im Immunserum vorhandenen und an das entsprechende Bakterium gebundenen Immunsubstanzen durch das Antieiweißserum gefällt werden. Daß aber eine Fällung von Substanzen, die am Bakterium fixiert sind, eine Agglutination der Bakterien bewirkt, ist durch M. Neisser und Friedemann[1]) erwiesen. Diese Autoren ließen Blei Verbindung mit den Bakterien eingehen, zentrifugierten und wuschen so lange, bis die Flüssigkeit keine Spuren von Blei mehr zeigte. Nach Zusatz von H_2S-Wasser trat momentan starke Agglutination ein; mikroskopisch war starke Schwarzfärbung der Bakterienenden sichtbar. In Analogie hierzu wird man annehmen dürfen, daß die an das Bakterium verankerten Immunsubstanzen des Immunserums durch das Antieiweißserum gefällt werden und daß diese Fällung im Bakterium eine Agglutination hervorruft. Von

1) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 19.

Wichtigkeit ist dabei, daß dieser Fällung mit großer Wahrscheinlichkeit nicht nur die Agglutinine, sondern auch andere Immunsubstanzen unterliegen. Es dürfte sich diese Methode daher wahrscheinlich überhaupt zum Nachweis von Antikörpern eignen. Und noch auf einen Punkt, der auch bereits experimentell in Angriff genommen ist, sei hingewiesen.

Bei dieser Kettenbindung ist das Immunserum einmal als Antiserum, andererseits auch als Antigen anzusehen. Seine Eigenschaft als Antiserum befähigt es, Komplement zu fixieren; durch seine Eigenschaft als Antigen ist es bei Zufügung von Antieiweißserum (Antikörper) wiederum im stande, Komplement zu fixieren und zwar wiederum auf das ursprüngliche korpuskuläre Element. Wenn man also in einem Immunserum komplementfixierende Ambozeptoren hat und neben diesen noch andere Ambozeptoren, denen die Fähigkeit der Komplementfixation abgeht, so wird man auch diese letzteren Ambozeptoren zur Komplementfixation benutzen können, wenn man die Kettenbindung anwendet und dadurch eine zweite Komplementfixation (Immunserum als Antigen, Antieiweißserum als Antikörper) hervorruft. Diese Erklärung dürfte auch für die von Friedberger und mir beobachtete Beschleunigung der Hämolyse zutreffen.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLVI. Heft 6.

Geflügeltuberkulose und Säugetiertuberkulose[1]).

Von Tierarzt **Oluf Bang,**
Assistenten an der tierärztlichen und landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen.

Die Frage, ob man bei Warmblütern nur einen einzigen Tuberkelbacillus findet oder ob es mehrere Arten desselben gibt, ist gegenwärtig eine der am meisten debattierten. Es verhält sich ja so, daß man aus jedem der 3 Vertreter (Mensch, Rind, Huhn), welche wesentlich die Träger der Tuberkulose sind, Bacillen reinzüchten kann, die gewöhnlich sowohl in bakterieller Beziehung als auch mit Bezug auf ihre Virulenz Abweichungen von den aus den beiden anderen reingezüchteten Bacillen darbieten.

Es liegt nahe, zu ermessen, daß dieses Verhalten davon herrührte, daß der Tuberkelbacillus auf der Passage durch die verschiedenen Tiergattungen ein wenig umgebildet würde; eine solche Umbildung hat man jedoch hinsichtlich des Menschen- und des Rinderbacillus bei der Passage durch das Rind bezw. den Menschen nicht mit Sicherheit nachzuweisen vermocht. Erweist es sich aber, daß sowohl bovine als auch humane Bacillen auf ihrer Passage durch Hühner in Geflügeltuberkelbacillen umgebildet werden, so wird dieses Verhalten in hohem Grade dafür sprechen, daß eine Umbildung ebenfalls stattfinden könnte, wenn z. B. Rinderbacillen lange Zeit hindurch im menschlichen Körper lebten. Ueber das Verhalten der Säugetiertuberkulose zur Geflügeltuberkulose liegt eine reiche Literatur vor. Aus dieser geht hervor, daß es ziemlich schwierig ist, Hühner mit Säugetiertuberkulose zu infizieren, namentlich durch Fütterung. Andererseits liegen nicht gar wenige Berichte darüber vor, daß es durch Impfung gelungen ist, die Säugetiertuberkulose auf Federvieh zu übertragen, z. B. von Cadiot, Gilbert, Roger und Nocard. Alle diese Forscher meinen, daß durch Hühnerpassage eine Umbildung der Säugetierbacillen in Geflügelbacillen stattfinde. Die überzeugendsten Umbildungsversuche wurden von Nocard ausgeführt, der Säugetiertuberkulosebacillen in Kollodiumsäckchen einschloß, diese in die Bauchhöhle von Hühnern legte, aus diesen Säckchen, nachdem sie längere Zeit hindurch in der Bauchhöhle gelegen hatten, die Bacillen in Reinkultur züchtete und darauf wieder die Bacillen in Kollodiumsäckchen in andere Hühner einführte. Es erwies sich, daß die Säugetierbacillen hierdurch allmählich sowohl in kultureller Beziehung als auch hinsichtlich der Virulenz alle Eigenschaften der Geflügeltuberkelbacillen annahmen. Wegen negativer Uebertragungsversuche haben zahlreiche andere Autoren den Geflügeltuberkelbacillus als eine besondere Art aufgestellt, ja einzelne, wie Weber und Bofinger, gehen in der jüngsten Zeit so weit, daß sie behaupten, es sei in der Tat niemals gelungen, Hühner mit der Säugetiertuberkulose zu infizieren; wenn einige Forscher meinten, ein positives Resultat erzielt zu haben, so rühre das davon her, daß die oft in reichlicher Menge eingeführten Bacillen als Fremdkörperchen gewirkt und keine anderen Vorgänge erregt hätten, als die Einspritzung abgestorbener Bacillen zu erzeugen vermocht haben würde.

---

1) Arbeit aus dem Laboratorium des Prof. Dr. B. Bang.



Wegen dieser so stark widerstreitenden Anschauungen habe ich geglaubt, es könne von Interesse sein, die Frage einer erneuerten Untersuchung zu unterwerfen.

Bevor ich über meine Untersuchungen Bericht erstatte, werde ich in Kürze einige der wichtigsten Verschiedenheiten der Säugetier- von den Geflügeltuberkelbacillen erwähnen, indem ich mir der Uebersichtlichkeit halber gestatte, den Menschen- und den Rindertuberkelbacillus vorläufig als eine Einheit im Gegensatz zum Geflügeltuberkelbacillus zu betrachten.

In kultureller Beziehung unterscheiden sich die Geflügelbacillen von den Säugetierbacillen dadurch, daß sie sich leichter züchten lassen und ein rascheres Wachstum besitzen. Ferner bieten die Kulturen ein verschiedenes Aussehen dar, indem die Kulturen aus dem Geflügel weißliche, fettige, gleichmäßige, feuchte und leicht zerteilbare Beläge auf dem Nährsubstrat bilden, während die Säugetierbacillen trockne, unebene Beläge geben, die sich bei Berührung in Fladen oder Klümpchen lostrennen und schwer zu zerteilen sind.

Diese Verschiedenheiten sind nun bei weitem nicht immer gleich stark hervortretend. So wächst der Geflügelbacillus auf Glycerinkartoffeln nicht selten in der Form trockner, unebner Beläge, während er auf Glycerinserum gewiß stets das charakteristische fette Wachstum zeigt (ich züchtete Reinkulturen von ca. 30 verschiedenen Stämmen aus Hühnern und Tauben). Umgekehrt sah ich in einem Falle, wie eine durch Meerschweinchenpassage in Reinkultur dargestellte Rindertuberkulose auf Glycerinserum völlig wie eine Geflügeltuberkulose wuchs; auf Bouillon dagegen, wo dieser Stamm sich zur Vermehrung sehr ungeneigt zeigte, wuchs er wie eine typische Säugetiertuberkulose.

Auf Bouillon sind die Geflügelbacillen sehr geneigt, sogleich reichliches Wachstum am Boden zu bilden, während viele der Stämme erst nach Verlauf längerer Zeit dazu gebracht werden können, reichliches Wachstum an der Oberfläche zu geben. An der Oberfläche der Bouillon zeigen viele der Stämme kein besonders schleimiges Wachstum, einige werden allmählich Säugetierstämmen dermaßen ähnlich, daß man sie von letzteren kaum unterscheiden kann. Viele Geflügelstämme werden jedoch auch auf Bouillon das charakteristische schleimige Wachstum zeigen, nebst der Geneigtheit, gleichzeitig reichliches Wachstum am Boden der Kolben zu bilden.

Die Virulenz der Geflügelbacillen für die gewöhnlich gebrauchten Versuchstiere ist sehr verschieden. Während Kaninchen für die Geflügeltuberkulose äußerst empfänglich sind, zeichnen Meerschweinchen sich durch hochgradige Resistenz aus. Meistens gelingt es nur, eine örtliche Tuberkulose hervorzubringen durch direkte Impfung tuberkulösen Geflügelmaterials an Meerschweinchen. Wendet man Reinkulturen an, so wird das Verhalten ein etwas anderes; durch subkutane Impfung erzielt man eine größere oder kleinere Ulceration an der Impfstelle und tuberkulöse Vorgänge in den regionären Lymphdrüsen; bei intraperitonealer Impfung werden die Meerschweinchen dagegen durch eine akute tuberkulöse Septikämie zu Grunde gerichtet, die Tuberkulose des „Type Yersin“, die sich durch Anschwellung der inneren Organe, namentlich der Milz, kundgibt. Aehnlich geht es bei intravenöser Impfung. Letzteres gilt übrigens nicht nur von Meerschweinchen, sondern auch Pferde, Rinder, Ziegen, Affen und Kaninchen gehen nach intravenöser Impfung unter ähnlichen Symptomen zu Grunde.

Im folgenden werde ich Untersuchungen referieren, welche erstens das **Verhältnis des Geflügels gegenüber Säugetiertuberkulose** behandeln, zweitens **dasjenige der größeren Säugetiere gegenüber Geflügeltuberkulose.**

I.

Bei den Untersuchungen der ersten Frage versuchte ich nicht nur darüber ins Reine zu kommen, ob die Hühner wirklich für die Säugetiertuberkulose so unempfänglich seien, wie die meisten Untersucher meinen, sondern auch darüber, wie sich Bacillen verhielten, die aus den mit Säugetierbacillen infizierten Hühnern gezüchtet wurden. Vorwiegend arbeitete ich mit Rinderbacillen, da diese für die meisten Tiere ja weit mehr virulent sind als Menschenbacillen. Teils benutzte ich Reinkulturen, teils in Chlornatriumlösung zerriebene Stückchen der Organe von Meerschweinchen oder Kaninchen, die mit tuberkulösem, vom Rinde stammenden Material infiziert waren; in einem einzelnen Falle benutzte ich direkt Organe tuberkulöser Rinder.

Es war mir klar, daß gegen die Resultate derartiger Versuche eingewendet werden konnte, daß die Hühner möglicherweise an spontaner Tuberkulose leiden könnten; ich suchte dieses möglichst zu vermeiden, indem ich alle meine Hühner von einem und demselben Mann auf dem Lande erhielt, der vor, während und nach der Anstellung meiner Versuche ca. 250 Hühner teils an die tierärztliche Hochschule, teils an das Laboratorium geliefert hat. Unter diesen Hühnern, die nicht zu Tuberkuloseversuchen zur Verwendung kamen, und die sämtlich obduziert wurden, befand sich kein einziges von Tuberkulose angegriffenes. Ferner habe ich bei den zu meinen Tuberkuloseversuchen benutzten Hühnern nie eine Tuberkulose älteren Datums als zu erwarten war, wie auch ebensowenig in anderen Organen vorgefunden; so traf ich niemals eine Darmtuberkulose an, ausgenommen in den Fällen, wo ich das tuberkulöse Material per os eingeführt hatte. Ich halte mich deshalb für berechtigt, von der Annahme auszugehen, daß keines der von mir benutzten Hühner an spontaner Tuberkulose gelitten hat.

Ich versuchte im ganzen, 18 verschiedene Tuberkelbacillenstämme auf Hühner zu übertragen. Unter diesen rührte 1 von einem Pferd, 11 von Rindern, 2 von Papageien, 4 von Menschen her. Die beiden Papageistämme verhielten sich wie typische Menschentuberkulosestämme.

Mit 6 dieser Stämme gelang es nicht, eine Tuberkulose hervorzurufen, dagegen gelang es mit den 12.

Das Verfahren bei den Versuchen, die Hühner zu infizieren, bestand teils in intravenöser, teils in subkutaner und teils in intraperitonealer Impfung. Wenn das bacillenhaltige Material in die Bauchhöhle injiziert wurde, spritzte ich gewöhnlich zugleich 10—20 ccm Serum oder einen Eidotter ein. Uebrigens verließ ich bald die intraperitoneale Impfung, da es sich erwies, daß dieselbe weit schlechtere Resultate ergab, als die anderen. Die Entscheidung darüber, was man positiven und was man negativen Erfolg zu nennen hat, ist schwierig; ich verfuhr nun so vorsichtig, daß ich nur diejenigen Fälle unter die positiven rechnete, wo sich makroskopisch bei der Sektion Tuberkulose oder solche Aenderungen, wie sie die tuberkulöse Septikämie, die Tuberkulose des „Type Yersin", charakterisieren, nachweisen ließen. Unter die Stämme, deren Uebertragung nicht gelang, wurden dagegen solche gerechnet, wo einzelne der Hühner tatsächlich an den eingespritzten Bacillen zu Grunde gingen.

Es geschieht nämlich dann und wann bei der intravenösen Injektion, daß einige der Hühner nach 4—6 Wochen in stark abgemagertem Zustande sterben, ohne daß sich makroskopische Aenderungen der Organe zeigen, wo es aber gelingt, mikroskopisch Tuberkelbacillen in der Leber und in der Milz nachzuweisen. In anderen Fällen erkrankten die Hühner allerdings und waren zuweilen äußerst stark mitgenommen, erholten sich jedoch wieder und zeigten bei der Sektion keine Aenderungen; wieder in anderen Fällen sah ich, daß Hühner nach Verlauf von 8 Tagen starben; bei Mikroskopie fand ich dann die Lungenkapillaren völlig mit Tuberkelbacillen verstopft.

Alle diese Fälle rechnete ich unter die negativen. Die unternommene Sonderung ist mithin ziemlich künstlich, sie besitzt indes den Vorzug, daß man gegen sie nicht den Einwand erheben kann, es sei in den positiven Fällen keine wirkliche Tuberkulose hervorgerufen worden.

Die durch die 12 Stämme erregte Tuberkulose war sehr verschiedener Beschaffenheit; in einzelnen Fällen war sie ziemlich unbedeutend und auf einige Knötchen in den Lungen beschränkt. In den meisten Fällen bekamen die Hühner nach intravenöser Impfung jedoch ziemlich ausgebreitete Lungentuberkulose. Wenn die subkutane Impfung nicht allein an der Impfstelle tuberkulöse Veränderungen hervorrief, so waren es gewöhnlich auch die Lungen, die angegriffen wurden; dieser Umstand ist der Beachtung wert, da bei spontaner Tuberkulose der Hühner die Lungen weit seltener angegriffen werden als Leber und Milz.

Drei der benutzten Stämme, übrigens sämtlich Rinderstämme, vermochten nach intravenöser Impfung akut verlaufende Tuberkulose bei Hühnern zu erregen; einer derselben erzeugte sogar durch subkutane Einspritzung eine solche.

Der erste Teil der Aufgabe, die ich mir gestellt habe, gab also das Resultat, daß 67 Proz. der angewandten Stämme sich fähig erwiesen, durch intravenöse oder subkutane Impfung Tuberkulose bei Hühnern zu erregen.

Der zweite Teil der Aufgabe, die Untersuchung, welche Aenderungen die eingeführten Säugetierbacillen während der Passage durch die Hühner erlitten, war selbstverständlich ungleich schwieriger. Einiger Stämme ging ich verlustig, indem die Anlage der Kulturen oder die weitere Uebertragung mißlang, und was mehrere andere betrifft, so sind die Untersuchungen noch nicht so weit fortgeschritten, daß ich mich über das Resultat äußern könnte.

7 Stämme gelang es mir jedoch durchzuführen, und bei 6 derselben konnte ich in allen Stücken Nocards Angabe bestätigen, daß Säugetierbacillen durch Hühnerpassage mit Geflügelbacillen identisch werden, indem sie alle morphologischen Eigenschaften annehmen, welche die letzteren auszeichnen; ferner werden sie für Hühner stark virulent und verlieren allmählich ihre Virulenz für Meerschweinchen.

Im folgenden werde ich einige der Stämme, deren Umwandlung mir gelang, ein wenig näher besprechen.

Rindertuberkulose 13[1]).

Den Stamm, mit dem ich am meisten experimentierte, besaß ich von Anfang an in Reinkultur; derselbe war eine in allen Beziehungen typische Rinderkultur. Mit dieser infizierte ich 2 Hühner durch intravenöse Einimpfung von Bacillen, die in Chlornatriumlösung aufgeschwemmt worden waren. Beide Hühner gingen nach Verlauf eines Monats an akuter miliarer Tuberkulose der Lungen zu Grunde; in den anderen Organen fand sich keine makroskopische Tuberkulose, in der Leber und der Milz jedoch mikroskopische Tuberkel. Stückchen der Lunge des einen Huhns wurden in Chlornatriumlösung zerrieben, und hiermit impfte ich 1 Kaninchen intravenös und 2 Meerschweinchen, das eine intraperitoneal, das andere subkutan. Alle diese Tiere gingen an Tuberkulose zu Grunde, die ganz das Aussehen hatte, wie man es nach Impfung mit boviner Tuberkulose erblickt, die Meerschweinchen starben nach 3 bezw. 4 Wochen, das Kaninchen nach 41 Tagen. Letzteres hatte enorme miliare Tuberkulose der Lungen und starke Milzgeschwulst. Aus allen 3 Tieren legte ich Kulturen an. Aus den Meerschweinchen gewann ich Kulturen, die in allen Stücken derjenigen Kultur ähnelten, mit welcher das Huhn infiziert worden war; aus dem Kaninchen erhielt ich dagegen eine typische Geflügelkultur.

Mir scheint dieses Verhalten beachtenswert, da es illustriert, daß die gewöhnlich benutzten Versuchstiere (Meerschweinchen und Kaninchen) in gewissen Fällen Einfluß auf das Aussehen der Kultur üben können. Diesem Umstand legt man meistens kein hinlängliches Gewicht bei. In der Regel spricht man ja nur von Menschen- oder Rindertuberkulose, ganz sicher ist es aber doch, daß man mit Meerschweinchen- oder Kaninchentuberkulose arbeitet. Es ist wohl gegeben, daß die Umbildungen, welche die Bacillen erleiden, gewöhnlich keine sehr durchgreifenden sind; obengenannte Beobachtung scheint mir aber anzudeuten, daß es nicht immer völlig einerlei ist, ob man Meerschweinchen oder Kaninchen als Durchgangsglied gebraucht, um die erwünschten Bacillen in Reinkultur zu züchten, selbst wenn die Bacillen für beide Tierspecies virulent sind. Am besten wäre es, wenn man immer die Bacillen direkt aus dem spontanen Tuberkulosefalle in Reinkultur züchten könnte.

Mit der aus dem Kaninchen gewonnenen Reinkultur wurden 2 Meerschweinchen subkutan geimpft. Beide wurden von typischer Tuberkulose angegriffen, wie diese sich nach subkutaner Impfung mit Säugetierbacillen zeigt: Käsig veränderte Drüsen, gelbe Nekrosen in der Leber, stark angeschwollene Milz mit käsigen Vorgängen, miliare Tuberkulose in den Lungen. Das eine Meerschweinchen starb, das andere wurde nach reichlich 6 Wochen getötet. Aus der Milz des letzteren wurde eine Kultur gewonnen, die wie typische Hühnertuberkulose wuchs, sowohl auf Glycerinserum als auf Bouillon.

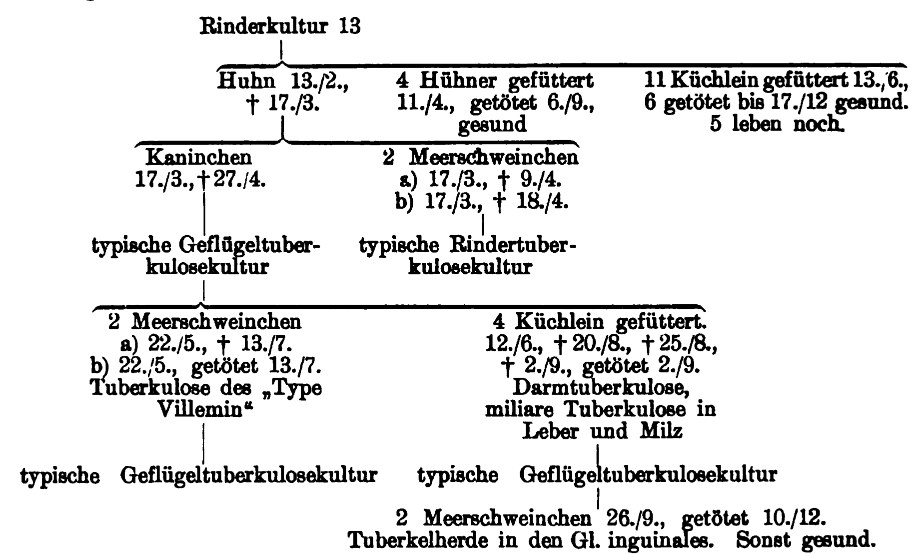
Mit der aus dem Kaninchen gewonnenen Kultur fütterte[2]) ich ferner 4 ca. 2 Monate alte Küchlein. Jedes Küchlein erhielt die Bacillen von einer Glycerinserumkultur. 3 gingen im Laufe von ca. $2^1/_2$ Monaten zu Grunde, das 4. wurde getötet. Die Sektion zeigte das Bild, das

1) Dieser Stamm wurde nach einer Meerschweinchenpassage in Reinkultur gezüchtet.

2) Alle meine Fütterungsversuche führte ich in der Weise aus, daß ich durch den Oesophagus einen Gummischlauch einführte, mittels dessen ich Bouillonkulturen oder in Kochsalzlösung aufgeschwemmte Bacillen in den Kropf einspritzte.



man stets nach Verfütterung virulenter Hühnertuberkulosekultur sieht, nämlich stark verbreitete frische Darmtuberkulose, miliare Tuberkulose der Leber und der Milz. Aus einem dieser Küchlein wurden Kulturen angelegt, womit ich 2 Meerschweinchen subkutan impfte. Als diese $2^1/_2$ Monate später getötet wurden, befanden sie sich in vorzüglichem Ernährungszustande und hatten nur in den Inguinalglandeln kleine tuberkulöse Eiterherde, ein Resultat, das man bei subkutaner Impfung mit Geflügelkultur konstant erzielt.



Man sieht in diesem Versuche den denkbar schönsten stufenweisen Uebergang einer Rinderkultur in eine Geflügelkultur. Ein 1-monatiger Aufenthalt in einem Huhn genügte nicht, um der Kultur ihre ursprüngliche Virulenz für Meerschweinchen zu entziehen, wohl aber, um das Aussehen der Kultur nach einer Kaninchenpassage zu verändern und deren Virulenz für Hühner beträchtlich zu steigern. Nach zweimaliger Hühnerpassage ist dieselbe indes eine völlig typische Geflügelkultur geworden — d. h. nicht nur in kultureller Beziehung, sondern auch hinsichtlich der geringen Virulenz gegenüber Meerschweinchen. Daß ihre Virulenz für Hühner schon nach einer Huhnpassage in hohem Grade gesteigert worden ist, geht daraus hervor, daß die ursprüngliche Kultur bei Verfütterung durchaus avirulent war; es wurden im ganzen 4 junge Hühner und 11 dreiwöchige Küchlein mit bedeutenden Mengen der ursprünglichen Rinderkultur gefüttert, keines dieser Tiere bekam aber Tuberkulose.

Aus dem anderen Huhn, das gleichzeitig mit dem oben besprochenen Huhn am 13. Febr. 1907 geimpft worden war, und das am 14. März 1907 an akuter miliarer Tuberkulose der Lungen ohne makroskopische Tuberkulose in anderen Organen starb, versuchte ich Kulturen anzulegen, was jedoch mißlang. Zugleich impfte ich mit ausgeriebenen Lungenknötchen 1 Kaninchen, das 3 Wochen nach der intravenösen Impfung an akuter miliarer Tuberkulose der Lungen zu Grunde ging; außerdem hatte es starke Milzgeschwulst. Aus der Milz wurde Kultur angelegt, die unrein wurde; gleichzeitig impfte ich am 6. April 1907 mit Milz-

gewebe 3 Hühner, eines intravenös, das zweite subkutan und das dritte intraperitoneal. Das subkutan geimpfte Huhn starb an Phlegmone und Peritonitis, das intraperitoneal geimpfte wurde von keiner Krankheit befallen, wogegen das intravenös geimpfte am 24. April zu Grunde ging. Die Sektion ergab miliare Tuberkulose in den Lungen, Geschwulst der Leber mit zerstreuten miliaren Tuberkeln. Aus der Leber wurde eine Reinkultur gewonnen, die wie typische Geflügeltuberkulosekultur wuchs.

Auch in diesem Falle wurde somit die Rinderkultur durch Hühnerpassage in Geflügelkultur umgebildet.

Um zu untersuchen, wie sich die Rinderkultur 13 bei subkutaner und intraperitonealer Impfung verhalten würde, impfte ich 1 Huhn intraperitoneal und ein anderes subkutan. Als die Hühner nach 5 Monaten getötet wurden, hatten beide käsige, hanfkorn- bis erbsengroße, eingekapselte Tuberkel in den Lungen, das subkutan geimpfte zugleich Tuberkulose an der Impfstelle. Ueberhaupt findet man immer wieder, daß vorzugsweise die Lungen bei Impfung mit Säugetierbacillen angegriffen werden; selbst bei intraperitonealer Impfung, die, wie gesagt, häufig erfolglos bleibt, werden die Lungen häufiger angegriffen, als das Peritoneum, die Leber oder die Milz.

Da ich zu erfahren wünschte, ob Papageien im stande wären, Rinderbacillen umzubilden, infizierte ich 3 Papageien durch Fütterung, bezw. subkutane und intraperitoneale Impfung. Aus allen 3 Papageien züchtete ich wieder Reinkulturen, teils direkt, teils nach Passage durch Kaninchen. In allen 3 Fällen wuchsen die Kulturen wie die ursprüngliche Rinderkultur 13. Auch die Virulenz hatte sich nicht geändert, indem Küchlein, die mit reichlicher Menge einer der Kulturen gefüttert wurden, gesund blieben, während Meerschweinchen, die mit derselben Kultur subkutan geimpft wurden, nach Verlauf von 3 Wochen an Tuberkulose des „Type Villemin“ starben.

Weber und Bofinger behaupteten, wie oben erwähnt, daß die tuberkulösen Vorgänge, die frühere Autoren durch Einimpfung von Säugetierbacillen bei Hühnern hervorgerufen zu haben glaubten, sich nicht von denjenigen unterschieden, die man durch Impfung mit abgestorbenen Bacillen erregen könne.

Um dies zu untersuchen, impfte ich am 10. April 1907 einen jungen Hahn intravenös mit 2 ccm einer Bacillenaufschwemmung der bovinen Kultur 13, ein junges Huhn dagegen mit 2 ccm einer ähnlichen Aufschwemmung von Bacillen derselben Kultur, die durch Toluol getötet worden waren. Der Hahn starb nach 14 Tagen an Miliartuberkulose der Lungen, das Huhn wurde am 6. Sept. 1907 getötet; die Organe des letzteren hatten normales Aussehen, nur in den Lungen konnte man bei genauer Untersuchung eben einige kaum sichtbare, kleine Knötchen gewahren.

Die mikroskopische Untersuchung von Schnitten der Lunge und der Leber ergab, daß diese Organe ganz kleine, aber typische Epithelioidzellentuberkel enthielten, in denen ich jedoch keine Bacillen nachzuweisen vermochte.

Im Gegensatz hierzu fand ich in Fällen, wo ich makroskopisch nachweisbare, durch lebende Bacillen erregte Tuberkulose beobachtete, bei Mikroskopie stets wohlentwickelte Tuberkel, die leicht nachweisbare Bacillen, oft in großer Menge, enthielten. Diese Tuberkel enthielten ferner oft Riesenzellen, zuweilen von kolossaler Größe, mit zahlreichen Kernen, die in der Regel nicht am Rande, sondern über das ganze Proto-

plasma der Zelle zerstreut lagen, wie man dies häufig bei der Geflügeltuberkulose sieht.

Dieser Versuch scheint mir dagegen zu sprechen, daß abgestorbene Säugetierbacillen nach intravenöser Einspritzung tuberkulöse Vorgänge in größerem Umfang sollten erregen können.

Ein nicht geringes Gewicht lege ich dem Verfahren bei, das ich in den oben referierten und den meisten meiner anderen Versuche anwandte, indem ich nämlich zwischen zwei Hühnerpassagen eine Kaninchenpassage einschaltete. Die Kaninchen sind bei intravenöser Impfung in der Regel mindestens ebenso für Hühnerbacillen empfänglich, wie die Hühner selbst; ebenfalls sind sie für Rinderbacillen äußerst empfänglich, und durch meine Versuche erwies es sich, daß sie große Empfänglichkeit für Rinderbacillen besaßen, die durch eine kurze Hühnerpassage noch nicht völlig in Geflügelbacillen umgebildet worden waren; ferner zeigte es sich, daß die Kaninchen nicht die geringste Fähigkeit haben, derartige Zwischenformen zum Säugetiertypus zurückzuführen.

Aus allen diesen Gründen eignen die Kaninchen sich sehr wohl zu solchen Zwischengliedern. Es gibt auch noch andere Umstände, welche bewirken, daß die Kaninchen für gewisse Versuchsreihen durchaus unentbehrlich sind.

Sterben nämlich die Hühner nach intravenöser Impfung an Miliartuberkulose der Lungen ohne makroskopische Tuberkulose anderer Organe, so wird die Anlage einer Reinkultur aus solchen Lungen oft mißlingen. Impft man nun aus diesen Lungen weiter, so liegt es ja nahe, ein frisches Huhn mit Material aus den Lungen des vorhergehenden Huhnes zu impfen. Subkutane und intraperitoneale Impfung werden indes teils unsichere Resultate geben, teils erfordern sie mehrere Monate, bis man das Tier töten kann, und intravenöse Impfung mit zerriebenem Lungengewebe wirkt auf Hühner stets momentan tödlich[1]; Kaninchen dagegen ertragen solche Impfung mit zerriebener Hühnerlunge gut.

---

1) Dieser, meines Wissens bisher nicht erkannte Umstand beruht auf einer eigentümlichen koagulierenden Wirkung des zerriebenen Lungengewebes. Zerreibt man nämlich Hühnerlunge mit physiologischer Kochsalzlösung und impft man die somit entstandene Flüssigkeit, selbst nachdem alle festen Bestandteile mittels Filtrierens durch Filtrierpapier oder mittels Zentrifugierens entfernt worden sind, Hühnern intravenös ein, so bewirkt das augenblicklich ausgebreitete Koagulationen des Blutes im Herzen und in den Gefäßen. Zuweilen kann die Koagulation so schnell eintreten, daß man sehen kann, wie das Herz arbeitet, um sich zu kontrahieren, ohne jedoch hierzu im stande zu sein, weil das Blut in demselben in toto koaguliert ist. Diese Wirkung ist dem Lungengewebe spezifisch, weder die Leber noch die Milz, Knochenmark, koaguliertes Herz- oder Lungenblut hat ähnliche Wirkung. Koaguliert man die Eiweißstoffe der Flüssigkeit bei Erwärmung, so wird die Flüssigkeit unwirksam. Auszug aus Kaninchenlungen übt, sogar in großen Dosen eingespritzt, keine Wirkung auf Hühner. Es verhält sich jedoch nicht so, daß nur zerriebenes Lungengewebe derselben Tierspecies wirksam wäre; so kann zerriebene Taubenlunge, die Hühnern intravenös eingespritzt wird, ebenfalls ganz ähnliche intravaskuläre Koagulation des Blutes erzeugen, wenigstens nach wiederholter Injektion.

Dieses Verhalten gilt nicht nur für Vögel, auch bei Kaninchen beobachtet man plötzlichen Tod nach intravenöser Einspritzung zerriebener Kaninchenlunge, wenn auch nicht so konstant wie bei Hühnern, besonders wenn man junge Tiere impft oder größere Dosen verwendet; mitunter sieht man, daß die Kaninchen nach der Impfung zwar sehr krank werden, sich jedoch wieder erholen. Intravenöse Impfung mit zerriebener Lunge anderer Säugetiere, z. B. des Meerschweinchens, wirkt weniger sicher.

Beim Kaninchen beobachtet man Koagulation des Blutes nach der Impfung wesentlich in der Pfortader.

Der Rindertuberkulosestamm „Thomasminde".

Dieser Rinderstamm ist der erste Stamm, mit dem ich arbeitete. Ursprünglich besaß ich ihn nicht in Reinkultur, indem verschiedene Versuche, Reinkultur zu züchten, mißlangen.

Mein Ausgangspunkt war ein tuberkulöses Meerschweinchen, das mit Rindertuberkulose infiziert war. Mit der in Chlornatriumlösung zerriebenen Milz wurden am 12. März 1906 2 Hühner und 2 Ziegen subkutan geimpft. Die Ziegen gingen nach 1½—2 Monaten an akuter Miliartuberkulose der Lungen zu Grunde.

Die Hühner wurden am 3. Okt. 1906 getötet. Beide hatten wenige, käsige, eingekapselte Knötchen in den Lungen und der Leber. Aus diesen käsigen Knötchen gewann ich eine Kultur, die wie eine typische Geflügelkultur wuchs. Auch rücksichtlich der Virulenz verhielt sich diese Kultur wie die typische Geflügeltuberkulose; bei intravenöser und subkutaner Impfung war sie für Hühner hochvirulent, während sie nach subkutaner Impfung an Meerschweinchen nur örtliche Tuberkulose und Tuberkulose der regionären Lymphdrüsen erregte.

Mit der aus den Hühnern gewonnenen Kultur impfte ich am 9. Jan. 1907 2 Ziegen, welche die Tuberkulinprobe bestanden hatten. Die eine wurde intravenös mit 10 ccm Bouillonkultur geimpft; nach 3 Wochen starb sie an Tuberkulose des „Type Yersin". Die andere, ein 7-monatiges Zicklein, wurde mit 10 ccm Bouillonkultur subkutan geimpft. Das Zicklein bekam an der Impfstelle einen großen Absceß, der jedoch allmählich verheilte. 6 Monate später war die Ziege dem Anschein nach völlig gesund; sie wurde nun getötet, und man fand außer zerstreuten, kleinen, tuberkulösen Eiterherden in der Subcutis, in der Umgegend des Sitzes des Abscesses, Tuberkulose in der Bugdrüse, mehrere kleine Kavernen zerstreut in den Lungen, Tuberkulose in den Drüsen der Lunge und in den Gekrösdrüsen. Aus den Mediastinaldrüsen wurde Kultur angelegt, die wie typische Geflügeltuberkelkultur wuchs.

Aus der Mediastinaldrüse wurden ferner am 18. Juli 1907 2 Meerschweinchen subkutan geimpft. Diese gingen an Tuberkulose des „Type Villemin" zu Grunde (Lymphdrüsen, Leber, Milz angegriffen, Miliartuberkulose der Lungen). Aus der Milz eines dieser Meerschweinchen wurde eine Kultur angelegt, die ebenfalls wie die Geflügeltuberkulose wuchs.

Dieser Versuch zeigt erstens, daß Säugetierbacillen durch Hühnerpassage in Bacillen umgebildet werden, die sich wie Geflügelbacillen verhalten, ferner, daß ein ursprünglicher Rinderbacillus, nachdem er durch langedauernde Hühnerpassage seine Virulenz für Meerschweinchen verloren hat, im stande ist, diese Virulenz durch Säugetierpassage wiederzugewinnen.

Die 3 nächsten Stämme (1 Pferdetuberkulose- und 2 Rindertuberkulosestämme) besaß ich nicht von Anfang an in Reinkultur. Ich benutzte Teile von Organen infizierter Meerschweinchen zum Impfen der Hühner. Das erste Mal wurden 7 Hühner geimpft, teils intravenös, teils subkutan und teils intraperitoneal; die intraperitoneal geimpften blieben gesund. Nach Verlauf von reichlich 3 Monaten wurden die Hühner getötet; eines der intravenös geimpften war jedoch 1 Monat nach der Impfung an einer Milzruptur gestorben; die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die Milz von nur mikroskopisch sichtbaren

Tuberkeln durchsetzt war, in welchen Tuberkelbacillen nachgewiesen wurden. Die anderen Hühner[1]) zeigten bei der Sektion zerstreute, käsige, hanfkorn- bis erbsengroße Tuberkel in den Lungen.

Bei sämtlichen 3 Stämmen gelang es mir, aus den Tuberkeln in den Lungen teils direkt, teils nach Kaninchenpassage Bacillen in Reinkultur zu züchten, die sowohl auf Glycerinserum als auch in Bouillon wie typische Geflügelstämme wuchsen. Nach subkutaner Impfung an Meerschweinchen waren sie nur im stande, örtliche Tuberkulose zu erregen, während sie für Hühner, auch bei Verfütterung, stark virulent waren. Auch diese 3 Stämme sind also durch Hühnerpassage im Geflügelstämme umgebildet worden.

Was den Pferdetuberkulosestamm und den einen Rinderstamm betrifft, so gelang es mir übrigens, diese Stämme vor der Hühnerpassage aus den Meerschweinchen reinzuzüchten, und ich konnte mithin feststellen, daß dieselben ebenfalls durch die Hühnerpassage in kultureller Beziehung verändert wurden. Die Pferdetuberkulose wuchs ganz wie Säugetiertuberkulose, wogegen die Rindertuberkulose auf Glycerinserum sich durch ihr Wachstum nicht von einer Geflügeltuberkulose unterscheiden ließ; auf Bouillon wuchs sie aber wie Säugetiertuberkulose. Bei Impfversuchen an Hühnern mit Reinkultur dieses Stammes erwies es sich, daß er keine größere Virulenz besaß, als die anderen benutzten Rinderstämme. Durch Hühnerpassage erhielt er indes stark vermehrte Virulenz, und dann wuchs er auch auf Bouillon wie typische Geflügelkultur.

Der Rinderstamm 951b.

Dieser Stamm zeichnet sich durch außerordentliche Virulenz für Hühner und äußerst geringe Virulenz für Meerschweinchen aus. Er rührt von einer stark angeschwollenen Bronchialdrüse her, die ich der Lunge einer Kuh entnahm, welche wegen miliarer Tuberkulose der Lungen auf dem Kopenhagener Schlachthofe beanstandet worden war. Teile dieser angeschwollenen Drüse, deren Ausstrichpräparate nur wenige Bacillen enthielten, wurden mit Kochsalzlösung zerrieben und am 23. März 1907 einem Kaninchen 951b intravenös injiziert, das am 1. Mai 1907 starb. Die Sektion ergab nur unbedeutende Lungentuberkulose, dagegen enorme Anschwellung der Milz. Das gefärbte Strichpräparat aus dieser war von Bacillen völlig rot.

Aus der Milz wurden Kulturen angelegt[2]), diese wuchsen sehr rasch und üppig, so daß ich glaubte, meine Gläser seien infiziert worden, was jedoch nicht der Fall war.

---

1) Die mit den verschiedenen Stämmen geimpften Tiere wurden stets voneinander isoliert gehalten.

2) Diese wie auch meine sämtlichen seitdem angelegten Kulturen wurden in viereckigen Kulturgläsern angelegt. In diesen Gläsern erstarrt Glycerinserum, während man sie in schräger Stellung hält; darauf gießt man 10 ccm Bouillon in das Glas. Legt man dieses nun auf eine Seitenfläche, so bedeckt die Bouillon den unteren Teil des Serums, während der größere Teil der Serumfläche höher als die Bouillon liegt und schräg gegen diese abfällt. Die Gläser verschloß ich durch ein mit Wattepfropfen versehenes Glasröhrchen, über welches ein Gummischlauch gezogen wurde. Diese Konstruktion wurde meines Wissens zuerst von der englischen Tuberkulosekommission angewandt. Sie sollte den Vorzug besitzen, daß die auf die freie Serumfläche gesäten Bacillen nach unten wachsen und dann auf der Bouillon schwimmen, was sie auch häufig tun; der größte Vorteil liegt indes darin, daß man ein sichereres und üppigeres Wachstum erzielt, weil die Flaschen in offener Verbindung mit der Luft stehen.

Direkt mit aufgeschwemmtem Milzgewebe des Kaninchens 951 b impfte ich zwei Hühner. Das eine, 995 a, wurde intravenös geimpft und starb am 13. Mai 1907; es zeigte starke Anschwellung der Leber und der Milz, welche Organe auch gedrängt voll von Bacillen waren. Das andere Huhn, 995 b, wurde subkutan geimpft; es starb am 13. Juni und hatte bei der Sektion Tuberkulose an der Impfstelle wie auch zahlreiche bis hanfkorngroße Tuberkel in der Leber und der Milz.

Mit der Leber des Huhnes 995a wurden am 13. Mai 2 Hühner, 1 und 2, gefüttert. Diese starben nach $2^1/_2$ bezw. $3^1/_2$ Monaten an frischer Darmtuberkulose und miliarer Tuberkulose der Leber und der Milz, mit einzelnen Knötchen in den Lungen und dem Knochenmark.

Mit einer aus dem Huhn 995 a angelegten Kultur wurden am 17. Juni 4 Küchlein, 42 a, b, c, d, gefüttert, die im Laufe von 2 Monaten an Tuberkulose zu Grunde gingen.

Am 28. Juni wurden mit derselben Kultur 2 Meerschweinchen, No. 74, subkutan geimpft; diese wurden am 10. Dez. getötet. Sie erwiesen sich als sehr fett und hatten nur in den Inguinalglandeln kleine tuberkulöse Eiterherde.

Kaninchen 951 b

- Huhn 995 a und b, geimpft. Starben tuberkulös
  - Huhn 1 u. 2, gefüttert. Starben tuberkulös
  - Kultur (typische Geflügeltuberkulosekultur)
    - Küchlein 42 a, b, c, d, gefüttert, starben an Tuberkulose
    - 2 Meerschweinchen No. 74, geimpft, nur örtliche Tuberkulose
- Kultur 951 b
  - 3 Meerschweinchen No. 73, geimpft, nur örtliche Tuberkulose
  - 3 Küchlein, gefüttert, 1 getötet, wenig Tuberkulose

Mit der aus dem Kaninchen 951 b angelegten Kultur wurdem am 28. Juni 3 Meerschweinchen, No. 73, geimpft. Diese hatten nur an der Impfstelle und in den Inguinaldrüsen Tuberkulose, als sie 3 Monate nach der Impfung getötet wurden.

Ferner wurden am 6. Sept. 3 Küchlein mit Kultur 951 b gefüttert. Eines derselben wurde am 13. Nov. getötet und zeigte nur unbedeutende Darmtuberkulose. Die beiden anderen leben noch.

Was das Aussehen der Kultur 951 b betrifft, so scheint diese mir sowohl auf Glycerinserum als in Bouillonkultur auf dem Uebergange zwischen einer Rinderkultur und einer Geflügelkultur zu stehen.

Man kann nicht behaupten, daß diese Kultur umgebildet worden sei; es scheint mir aber von großem Interesse, daß Rinderstämme vorkommen, die von Anfang an für Hühner hochvirulent sind, indem dies mit Erfahrungen aus der Praxis übereinstimmt. Es wird in der Literatur ja oft über Fälle berichtet, in welchen man annehmen muß, daß Hühnerbestände durch Teile von Organen tuberkulöser Rinder infiziert worden seien.

Die Annahme liegt ja nahe, daß der oben besprochene Stamm wirklich ursprünglich ein Geflügelstamm gewesen sei; dies würde notgedrungen zu der Ansicht bewegen, daß spontane Rindertuberkulose vorkommen könnte, die von Geflügeltuberkelbacillen herrührte. Es wäre zwar denkbar, daß es Forscher gäbe, die die oben angeführten Verhältnisse dadurch erklären wollten, daß bei dem Rinde eine Mischinfektion

von Geflügel- und Rinderbacillen vorliege, so daß die Geflügelbacillen nur zufällig zugegen sein sollten, ohne bei der Krankheit des Rindes eine Rolle zu spielen. Dies würde aber eine reine Hypothese sein und paßt auch nicht zu den Impfergebnissen. Man muß nämlich annehmen, daß Bacillen, die eine Miliartuberkulose der Lungen erregt haben, auch in der stark angeschwollenen Bronchialdrüse vorhanden sein müssen. Die Kaninchenpassage kann die Rinderbacillen nicht eliminieren, und die Meerschweinchen No. 73 wurden direkt aus einer der zuerst angelegten Kulturen geimpft, so daß die Rinderbacillen nicht durch Umzüchtung verschwunden sein können. Die geimpften Meerschweinchen No. 73 bekamen, wie oben erwähnt, nur örtliche Tuberkulose.

Was die Menschenstämme betrifft, so arbeitete ich ausschließlich mit Reinkulturen. Unter den 4 Menschenstämmen und den 2 Papageienstämmen[1]), die ich benutzte, waren 3 Menschenstämme und beide Papageienstämme im stande, ziemlich bedeutende Tuberkulose bei Hühnern zu erregen. Bisher ist es mir indes nur gelungen, den einen Papageienstamm ganz durchzuführen; von dem anderen Papageienstamme habe ich jedoch auch wieder Reinkulturen gezüchtet, nachdem derselbe sich 3 Monate lang in einem Huhn aufgehalten hat. Jetzt wächst er wie ein typischer Geflügeltuberkulosestamm, seine Virulenz für Hühner und Meerschweinchen habe ich aber noch nicht prüfen können. Einer der Menschenstämme ging mir verloren, indem das aus dem Huhn geimpfte Kaninchen keine Spur von Tuberkulose darbot und die direkt aus dem Huhn angelegte Kultur verunreinigt wurde. Die beiden anderen Stämme werde ich dagegen hoffentlich durchführen können.

Papageientuberkulose I.

Dieser Stamm verhielt sich wie ein typischer Menschenstamm, indem er bei subkutaner Einimpfung für Meerschweinchen sehr virulent war und in Bouillonkulturen die den Menschenstämmen charakteristische Reaktion darbot, da er erst Alkali und darauf eine bedeutende Menge Säure bildete. Uebrigens wuchs er völlig wie ein typischer Menschenstamm.

Mit diesem Stamm impfte ich am 1. Juni 1907 zwei Hühner, eines, 33a, subkutan und das andere, 33b, intravenös. Das subkutan geimpfte Huhn wurde am 30. Aug. getötet. Es befand sich in gutem Ernährungszustande. Die Brustmuskulatur unter der Impfstelle war in großem Umfange und in fast ihrer ganzen Dicke etwas bindegewebig umgebildet und voll von gelblichen, käsigen Massen, die Tuberkelbacillen enthielten und zum Teil als flache Fladen schichtweise in der Muskulatur lagen. Zerstreut in den Lungen fanden sich 5—6 erbsengroße, käsige, eingekapselte Knötchen. In den anderen Organen war makroskopisch keine Tuberkulose zu gewahren.

Aus den Knötchen in den Lungen gewann ich eine Kultur, die wie typische Geflügeltuberkulose wuchs, auch in Bouillon.

Am 24. Nov. wurde mit dieser Kultur ein Huhn intravenös und 2 Meerschweinchen subkutan geimpft. Das intravenös geimpfte Huhn starb am 18. Dez. an einer Tuberkulose des „Type Yersin". Die geimpften Meerschweinchen haben tuberkulöse Ulcerationen an der Impf-

1) Für diese beiden Stämme bin ich dem Herrn Medizinalrat Prof. Dr. Joest zu Dank verpflichtet; alle beide wurden direkt aus tuberkulösen Papageien angelegt, die behufs der Sektion an das pathologisch-anatomische Institut in Dresden eingeliefert worden waren.



stelle bekommen, sind sonst aber völlig gesund. Aus dem Huhn 33a wurde ferner ein Kaninchen mit den in Kochsalzlösung zerriebenen käsigen Knötchen der Lungen intravenös geimpft. Dieses wurde 3 1/2 Monate nach der Impfung getötet, zeigte aber nur ein Paar submiliare Knötchen in den Lungen und den Nieren, was sicher damit in Zusammenhang steht, daß viele Menschenstämme für Kaninchen so wenig virulent sind.

Das Huhn 33b wurde in gutem Ernährungszustande am 14. Sept. getötet. Die Sektion ergab nur ein Paar einzelne, hanfkorngroße Tuberkel in der Milz. In den anderen Organen fand sich keine makroskopische Tuberkulose. Der Papageienstamm erwies sich somit in diesem Falle viel weniger virulent für Hühner bei intravenöser als bei subkutaner Applikation.

Endlich möchte ich mir gestatten, in Kürze ein Verhalten zu erwähnen, das bei Versuchen mit einem Rinderstamm, mit welchem ich noch arbeite, besonders deutlich zum Vorschein kommt. Der betreffende Stamm ist ein Rinderstamm, der für Hühner bei intravenöser Impfung ziemlich virulent ist.

Mit diesem wurden am 6. Sept. 2 Hühner intravenös geimpft. Das eine Huhn ging am 16. Okt. in stark abgemagertem Zustande zu Grunde. Bei der Sektion fand sich miliare Tuberkulose in den Lungen und starke Anschwellung der Leber, in welcher zahlreiche Bacillen angetroffen wurden.

Das andere Huhn wurde am 11. Dez. getötet; es befand sich in ziemlich gutem Ernährungszustande. Bei der Sektion erwiesen sich die Leber und die Milz normal, auch in Ausstrichpräparaten ließen sich keine Tuberkelbacillen nachweisen. Erst bei genauerer Untersuchung erwies es sich, daß die Lungen mit submiliaren Knötchen durchsetzt waren, die reichliche Mengen Bacillen enthielten. Beiden Hühnern war dieselbe Menge derselben Bakterienaufschwemmung eingespritzt worden.

Dies scheint mir ein recht hübscher Beweis zu sein, daß außer der verschiedenen Virulenz der Bakterienstämme für Hühner auch die individuelle Empfänglichkeit der Hühner eine Rolle spielt.

Zu meinen Versuchen benutzte ich stets junge Hühnchen, zu den Fütterungsversuchen gewöhnlich Küchlein. Auch zu den Impfversuchen gebrauchte ich Küchlein, ohne jedoch besonderen Vorteil hieraus gezogen zu haben, da die Küchlein oft ziemlich schnell an Rachitis zu Grunde gehen.

II.

Was die Empfänglichkeit größerer Säugetiere für die Geflügeltuberkulose betrifft, so geht aus der Literatur hervor, daß Rinder und Ziegen sich bei subkutaner Impfung wie Meerschweinchen verhalten; sie bekommen Tuberkulose an der Impfstelle und Tuberkulose in den regionären Lymphdrüsen. Bei intravenöser Impfung mit größeren Mengen von Bacillen sterben sie, wie früher erwähnt, an Tuberkulose des „Type Yersin“.

Mit Bezug auf die Fütterung unserer Haustiere liegen nur über äußerst wenige Versuche Berichte vor.

Weber und Bofinger fütterten junge Katzen mit Organen tuberkulöser Hühner mit negativem Resultat.

de Jong[1]) fütterte eine 1-jährige Färse, ein 14-tägiges Kalb, eine Ziege und ein Ferkel wiederholt mit Kulturen von Geflügelbacillen.

1) VIII. Internationaler tierärztlicher Kongreß. Bd. II. Budapest 1905.



Sämtliche Tiere wurden 4 Monate nach der ersten Fütterung getötet. Die Färse hatte nur kleine, zum Teil verkalkte Knötchen in den Gekrösdrüsen und einzelne Knötchen in den hinteren Lungenlappen. Das Kalb zeigte ähnliche, jedoch mehr verbreitete Prozesse in den Gekrösdrüsen und den Drüsen des Schlundkopfes. Bei der Ziege fanden sich nur einige kleine Tuberkel, wogegen das Ferkel zahlreiche tuberkulöse Abscesse in den Gekrösdrüsen darbot und die retropharyngealen Drüsen angeschwollen waren und Tuberkel enthielten. de Jong meint indes trotz dieser Versuche, daß der Geflügelbacillus von dem Säugetierbacillus verschieden sei, selbst wenn er für Säugetiere pathogen sei.

Mettam[1]) fütterte einen 2-jährigen Stier mit Kultur der Geflügeltuberkulose; als dieser nach $3\frac{1}{2}$ Monaten getötet wurde, zeigte er zahlreiche erbsengroße Tuberkel in den Mesenterialdrüsen. In den anderen Organen fand sich keine Tuberkulose.

Titze[2]) fütterte 4 Ferkel mit je 40 Glycerinserumkulturen des Hühnerbacillus. Eines der Ferkel bekam keine Tuberkulose, eines starb nach Verlauf von kaum 5 Monaten. In der Milz, der Leber, den Portal- und Gekrösdrüsen ließen sich in Ausstrichpräparaten Tuberkelbacillen nachweisen; die Milz und die Gekrösdrüsen waren angeschwollen, jedoch ohne sichtbare Tuberkel. Zwei Ferkel zeigten nach dem Schlachten käsige, stecknadelkopf- bis haselnußgroße Abscesse in den Gekrösdrüsen.

Ferner fütterte Titze ein halbjähriges Füllen mit 44 Glycerinserumkulturen, erhielt jedoch ein negatives Resultat.

Ich selbst habe Fütterungsversuche an 2 Pferden, 1 Füllen, 3 Kälbern, 2 jungen Ziegen und 7 Zicklein angestellt. Es erwies sich hierdurch, daß das für das Versuchsresultat Maßgebende das Alter der Tiere ist. Aeltere Tiere sind sehr resistent gegen Fütterung mit Geflügelbacillen, während sämtliche ganz junge Tiere an akuter Tuberkulose zu Grunde gingen, die namentlich den Darm und die Gekrösdrüsen äußerst heftig angegriffen hatte.

Am 12. März fütterte ich zwei ca. 5-jährige isländische Pferde mit großen Mengen von Bacillen aus 13 verschiedenen Geflügelstämmen (es wurde 3 Monate alte Bouillonkultur verwendet). Die beiden Pferde bekamen schon von jedem einzelnen der Stämme allein jedes für sich ebenso viel, wie das unten besprochene Füllen; sie boten aber, als sie am 28. Nov. getötet wurden, keine Spur von Tuberkulose dar.

Am 3. Juli 1907 fütterte ich ein $1\frac{1}{2}$-monatliches Füllen mit ca. 100 ccm Bouillonkultur von Hühnertuberkelbacillen[3]). Das Füllen starb am 27. Aug., nachdem es während der letzten 14 Tage starke Diarrhöe gehabt hatte. Es war fortwährend bei der Mutter geblieben.

Die Sektion ergab:

Geschwulst der solitären Follikel und der Peyerschen Plaques im Dünndarm, einzelne Follikel ein wenig ulceriert. Der Blinddarm und der Dickdarm waren stark verdickt, namentlich im Blinddarm fanden sich zahlreiche kleine Ulcerationen. Alle Gekrösdrüsen waren stark angeschwollen mit beginnender Verkäsung. Die Hilusdrüsen der Leber angeschwollen mit beginnender Verkäsung. Die übrigen Organe ohne makroskopisch tuberkulöse Veränderungen.

---

1) Proceedings of the Royal Irish Academy. Section B. Vol. XXVI. 1907.

2) Tuberkulosearbeiten aus d. kaiserl. Gesundheitsamte. 1907.

3) Dieser Stamm, welcher auch zu den erwachsenen Pferden benutzt wurde, war im Oktober 1906 direkt aus einem tuberkulösen Huhn angelegt worden. Uebrigens sind alle meine Geflügelstämme direkt aus tuberkulösem Geflügel gezüchtet.

An Schnitten erwies es sich, daß die Schleimhaut sowohl des Dünndarms als die des Dickdarms ganz mit Tuberkelbacillen angefüllt war; ebenfalls fanden sich Massen von Bacillen in den Drüsen des Gekröses und der Leber. Auch in der Leber wurden zahlreiche mikroskopische Tuberkel nachgewiesen.

Dieser Versuch illustriert somit recht schön, einen wie kolossalen Unterschied die jungen und die erwachsenen Tiere hinsichtlich ihrer Empfänglichkeit für Fütterungsinfektion zeigen. Gleichzeitig widerstreitet er der Ansicht Nocards, daß Pferde für Geflügelbacillen empfänglicher seien als andere Tiere.

Am 5. März fütterte ich zwei 1-jährige Ziegenböcke mit je 400 g Bouillonkultur von 7 verschiedenen Hühner- und Taubentuberkulosestämmen[1]). Die Ziegen wuchsen und gediehen gut. Sie waren beide vorher mit Tuberkulin geprüft worden. Am 27. Nov. wurde der eine getötet; dieser war im August und November sowohl mit gewöhnlichem Tuberkulin als mit Geflügeltuberkulin geprüft worden und hatte bei beiden Proben typische Reaktion gezeigt.

Die Sektion ergab, daß sich in den Gekrösdrüsen zahlreiche, bis erbsengroße, käsige Knötchen fanden. In der einen Lunge war eine walnußgroße Kaverne, ebenfalls fanden sich zerstreut in beiden Lungen einzelne bis haselnußgroße, tuberkulöse Prozesse; endlich zeigte der vordere Lappen der rechten Lunge ausgebreitete tuberkulöse Veränderungen. In den übrigen Organen war keine Spur von Tuberkulose zu gewahren.

Am 27. Dez. wurde der andere Ziegenbok getötet.

Die Sektion ergab: Keine Tuberkulose im Darm. Die Gekrösdrüsen von völlig normaler Größe; bei genauer Untersuchung wurden indes in einzelnen der Gekrösdrüsen bis stecknadelkopfgroße, käsige Prozesse entdeckt. In der linken Lunge fand sich eine walnußgroße tuberkulöse Kaverne; zerstreut in beiden Lungen einzelne erbsengroße tuberkulöse Prozesse, ausgedehnte Prozesse aber im vorderen Lappen der rechten Lunge. In der Mediastinaldrüse fand sich nur ein einziger stecknadelkopfgroßer, käsiger Tuberkel.

Es scheint mir der Beachtung wert, daß, namentlich im letzten Falle, die Veränderungen der Gekrösdrüsen nur unbedeutend sind, während die Lungen weit stärker angegriffen sind, obschon es sich um eine Fütterungstuberkulose handelt.

Am 22. April fütterte ich acht 2—4-wöchentliche Zicklein[2]). Fünf derselben wurden mit je 50 ccm Bouillonkultur desselben Stammes gefüttert, mit dem ich das Füllen gefüttert hatte. Zwei fütterte ich mit je 40 ccm eines Menschenstammes, eines mit 20 ccm Bouillonkultur eines Rinderstammes. Sämtliche Zicklein blieben bei ihren Müttern.

Die 5 mit Geflügeltuberkulose gefütterten Zicklein starben zwischen dem 23. und 66. Tage nach der Fütterung. Die Sektion zeigte aus-

1) Alle von mir in Reinkultur gezüchteten Stämme aus spontaner Taubentuberkulose verhielten sich wie typische Geflügelbacillen.

2) Alle zu den Tuberkuloseversuchen benutzten Ziegen waren vorher mit Tuberkulin geprüft worden. Was diese 8 Zicklein betrifft, so wurden doch statt der Zicklein die Mütter geprüft. Uebrigens rühren alle benutzten Ziegen von einer Herde her, die man seit mehreren Jahren im Laboratorium züchtet, und die niemals einen Fall von Tuberkulose gezeigt hat.



gedehnte Darmtuberkulose und Gekrösdrüsentuberkulose. Bei dem zuerst gestorbenen waren die Peyerschen Plaques angeschwollen, bei den später gestorbenen waren alle Peyerschen Plaques ulceriert. Die Gekrösdrüsen enorm vergrößert, mit beginnender Verkäsung. Die Hilusdrüsen der Leber ebenfalls angeschwollen. In den Lungen der zuletzt gestorbenen Zicklein fanden sich ferner zahlreiche miliare Knötchen. An Schnitten außerdem zahlreiche mikroskopische Tuberkel in der Leber.

Die zwei mit Menschentuberkulose gefütterten Zicklein wurden am 10. Okt. getötet. In dem einen fand sich nur ein erbsengroßer tuberkulöser Prozeß in der einen Lunge. Keine Darm- noch Gekrösdrüsentuberkulose.

In dem zweiten fanden sich einige hanfkorngroße, käsige Knötchen in den Gekrösdrüsen; keine Darmtuberkulose, dagegen zerstreut in beiden Lungen ziemlich viele erbsen- bis nußkerngroße tuberkulöse Prozesse wie auch Tuberkulose in den Drüsen der Lunge.

Das mit Rindertuberkulose gefütterte Zicklein wurde ebenfalls am 10. Okt. getötet.

Im hinteren Teile des Dünndarms fanden sich einzelne pfenniggroße Ulcerationen. In den Gekrösdrüsen zahlreiche hanfkorngroße, verkalkte Knötchen. Im mittleren Lappen der rechten Lunge gewahrte man eine große Kaverne; der vordere Lappen war der Sitz einer tuberkulösen Bronchopneumonie mit kleineren Kavernen. Ferner fanden sich tuberkulöse Prozesse in den Bronchial- und den Mediastinaldrüsen und in den retropharyngealen Drüsen.

Das Resultat dieses Versuchs war mithin, daß die Geflügelbacillen sich bei Verfütterung als für junge Zicklein weit virulenter erwiesen als Menschen- und Rinderbacillen, sowie daß junge Ziegen weit empfänglicher sind als ältere.

Am 12. Aug. fütterte ich zwei ca. $3^1/_2$-monatliche Zicklein mit 50 ccm Bouillonkultur von 2 Hühnertuberkulosestämmen, die bisher noch nicht zu Fütterungsversuchen angewandt worden waren.

Die Zicklein wurden mit je einem Stamme gefüttert. Beide wurden in sterbendem Zustande am 8. Okt. getötet.

Das eine zeigte bei der Sektion Ulceration sämtlicher Peyerschen Plaques, stark angeschwollene Gekrösdrüsen mit zahlreichen käsigen Prozessen, angeschwollene Portaldrüsen. Keine makroskopische Tuberkulose in den anderen Organen.

Das zweite ergab ebenfalls, daß alle Peyerschen Plaques des Darmes ulceriert waren, wie auch enorme Vergrößerung der zum Teil verkästen Gekrösdrüsen. Die Leber war stark vergrößert und mit eben sichtbaren Tuberkeln durchsät. Die Lungen waren gleichfalls mit submiliaren Tuberkeln durchsät.

Dieser Versuch wurde angestellt, um zu erfahren, ob auch andere Geflügelstämme als derjenige, mit dem ich am meisten arbeitete, für junge Tiere bei Verfütterung hochvirulent seien. Es erwies sich somit, daß dies der Fall ist.

Am 12. Juni fütterte ich ein 5-monatliches Kalb[1]) mit 300 g Bouillonkultur des Stammes XXX, desselben, mit dem das Füllen gefüttert worden war.

Das Kalb starb am 26. Juli. Die Sektion ergab, daß die Follikel und die Peyerschen Plaques ulceriert oder mit dickem, weißlichem

1) Selbstverständlich waren die Kälber vorher mit Tuberkulin geprüft worden.

nekrotischem Schorf bedeckt waren, der zum Teil abgestoßen im Darm lag. Die Gekrösdrüsen waren enorm vergrößert, mit beginnender Verkäsung. Die Portaldrüsen waren angeschwollen und enthielten Tuberkelbacillen.

An Schnitten wurden auch in der Leber zahlreiche mikroskopische Tuberkel nachgewiesen.

Am 12. Aug. fütterte ich ein ca. 3-monatliches Stierkalb mit 100 ccm einer 2 Monate alten Bouillonkultur des Taubentuberkulosebacillus.

Das Kalb wurde im sterbenden Zustande[1]) am 20. Sept. getötet.

Bei der Oeffnung der Bauchhöhle sah man an den Därmen zahlreiche wurstförmig verdickte Stellen. Nach dem Aufschneiden erwies es sich, daß diese davon herrührten, daß die Peyerschen Plaques in enorme käsige Schorfbildungen umgestaltet waren, welche die Darmwand kolossal auftrieben. An anderen Stellen hatte die Tuberkulose die ganze Darmwand angegriffen und dieselbe an mehreren Orten völlig nekrotisiert, was ausgedehnte Adhärenzbildungen veranlaßt hatte, teils zwischen den Därmen untereinander, teils zwischen den Därmen und dem Gekröse. Beim Aufschneiden des Dünndarms fanden sich alle solitären Follikel und Peyerschen Plaques mit den oben genannten nekrotischen Schorfbildungen bedeckt, welche bald erbsengroß waren, bald die Länge von mehreren Zoll hatten und enorm dick waren, so daß sie an einzelnen Stellen das Lumen des Darmes völlig ausfüllten, z. B. an dem Uebergange des Dünndarms in den Blinddarm.

Die Gekrösdrüsen waren stark angeschwollen, nicht käsig und enthielten nicht besonders viele Bacillen. Keine makroskopische Tuberkulose in den anderen Organen.

Am 12. Aug. fütterte ich ferner ein 3-monatliches weibliches Kalb mit nur 25 ccm Bouillonkultur des Hühnerstammes XXX. Die Kultur war 5 Wochen alt und nicht stark ausgewachsen.

Das Kalb wurde am 14. Okt. im sterbenden Zustande getötet. Bei der Sektion fand man die Peyerschen Plaques des Dünndarms ulceriert und zum Teil mit kleinen nekrotischen Gewebsfetzen bedeckt. Die solitären Follikel des Dünndarms waren angeschwollen; bei genauem Nachsehen konnte man in denselben kleine käsige Partieen gewahren, die ebenfalls durch die Serosa hindurchschimmerten. Der Blinddarm war verdickt mit geschwollenen Follikeln. Der Grimmdarm und der Mastdarm hatten normales Aeußere. Die Gekrösdrüsen waren ganz enorm vergrößert und im Zustande frischer Verkäsung.

Gefärbte Ausstrichpräparate wurden vor Bacillen völlig rot.

Die anderen Organe ohne makroskopische Veränderungen, doch ließen sich an Schnitten zahlreiche miliare Tuberkel in der Leber nachweisen.

Dieser Versuch ist deshalb von großem Interesse, weil er zeigt, wie die Geflügelbacillen für junge Tiere so hochvirulent sind, daß sogar eine sehr mäßige Verfütterung — 25 ccm Bouillonkultur ein einziges Mal — eine akut verlaufende tödliche Tuberkulose bei einem 3-monatlichen Kalbe zu erregen vermag. Ein noch so hochvirulenter Rinderstamm würde kaum gewaltigeren Erfolg haben.

---

1) Die gefütterten Tiere, die an Tuberkulose zu Grunde gehen, bekommen ein paar Wochen nach der Fütterung starkes Fieber, das um 41° herum schwankt. In den letzten Wochen vor dem Tode bekommen sie starke Diarrhöe. Die Tiere magern sehr stark ab und hören zu fressen auf. Die von mir getöteten Tiere wurden getötet, wenn ihre Temperatur subnormal zu werden anfing.

Was die Frage einer Umbildung von Geflügelbacillen in Säugetierbacillen betrifft, so bestreiten die meisten Forscher, daß eine solche stattfinden könne. Ich habe aus mehreren der mit Geflügelbacillen gefütterten Tiere die Bacillen wieder in Reinkultur gezüchtet; dieselben verhielten sich wie Geflügelbacillen. Ferner habe ich Meerschweinchen direkt aus den Gekrösdrüsen der angegriffenen Tiere geimpft. Die meisten derselben zeigten nur lokale Tuberkulose, nicht wenige leben noch; einige sind jedoch an Tuberkulose gestorben. Weitere Uebertragungsversuche liegen noch nicht vor.

Von vornherein sollte man es für wahrscheinlich halten, daß eine Umbildung aus Geflügelbacillen in Säugetierbacillen stattfinden könnte, wenn so viele Säugetierstämme sich, wie aus meinen Versuchen hervorgeht, verhältnismäßig leicht in Geflügelbacillen umbilden lassen, und wenn junge Säugetiere für Geflügelbacillen so äußerst empfänglich sind. Es scheint mir auch nicht berechtigt, die Umbildungsmöglichkeit zu bestreiten, weil man durch Meerschweinchenpassage keine Umbildung zu erzielen vermag. Es sind ja auch nicht alle Vögel im stande, Säugetierbacillen in Geflügelbacillen umzubilden, Papageien z. B. vermögen dies ja durchaus nicht.

Erst viele Versuche mit lange andauernder Passage durch Kälber werden meiner Ansicht nach dazu berechtigen, Schlüsse über die Möglichkeit einer Umbildung von Geflügelbacillen in Rinderbacillen zu ziehen. Ich bin mit ein paar einzelnen Versuchen in dieser Richtung beschäftigt, diese sind aber noch nicht so weit vorgeschritten, daß ich sie zu Folgerungen verwerten könnte.

Wirkung der toxischen Produkte des Streptococcus pyogenes auf den arteriellen Blutdruck.

[Aus dem Institut für menschliche pathologische Anatomie der Königl. Universität zu Bologna. Direktor: Prof. G. Martinotti.]

Von Dr. **Bindo de Vecchi,** Assistenten und Privatdozenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

Mit 3 Kurven.

Eine Schwankung des Blutdruckes kann bekanntlich auch unter physiologischen Bedingungen durch vielfache Umstände oder auch unter dem Einflusse chemischer Substanzen oder therapeutischer Maßnahmen und endlich in besonderen Krankheitszuständen stattfinden; es ist ebenfalls bekannt, daß viele Infektionskrankheiten durch eine bisweilen beträchtliche Spannungserniedrigung charakterisiert sind. — Huchard[1]) teilt die Krankheiten in hypertensive und hypotensive ein: zu den ersten rechnet er keine einzige Infektionskrankheit, unter den zweiten zählt er auf: die infektiösen Fieber, die Influenza, die Lungentuberkulose, die Diphtherie, die Pocken (im Anfange), die Pneumonie, die Cholera und andere Krankheitszustände vielleicht infektiöser Natur. Potain[2]) gibt eine Auf-

---

1) Huchard, Maladies du cœur et de l'aorte. Paris 1899. p. 52.

2) Potain, La pression arterielle de l'homme à l'état normale et à l'état pathologique. Paris 1902. p. 113.

stellung von Krankheiten mit 1) sehr starkem Drucke (21—31 cm Hg), 2) mit starkem Drucke (18—21 cm Hg), 3) mit mittlerem Drucke (15 bis 17 cm Hg), 4) mit niedrigem Drucke (12—14 cm Hg) und 5) mit ganz niedrigem Drucke (7—11 cm Hg). In den beiden ersten Klassen trifft man keine Infektionskrankheit an, in die dritte Gruppe setzt er die Pneumonie, die Bronchitis, die Pleuritis, die chronische Colitis, den chronischen Rheumatismus, in die vierte die Lungentuberkulose, den Typhus, den akuten Gelenkrheumatismus, und in der fünften finden wir endlich die chronische Gastritis, die chronische Dysenterie, die choleraähnliche Diarrhöe und die Purpura haemorrhagica[3]).

Wenn auch die Resultate klinischer Untersuchungen ohne weiteres eine Klassifikation vieler Infektionskrankheiten unter die Krankheiten mit Hypotension gestatten, so geben die experimentell, mittels Inokulation der Bakterien oder ihrer Produkte bei Tieren erhaltenen Resultate, wie wir gleich sehen werden, nicht dieselbe Berechtigung.

Charrin und Gley waren zweifelsohne die ersten (1890), welche die Aufmerksamkeit auf die Wirkungen lenkten, die eine Injektion von Bakterienprodukten im Zirkulationsapparat der Tiere hervorrief. In einer ersten Mitteilung, die zuerst der Akademie der Wissenschaften in Paris, dann der Biologischen Gesellschaft, darauf dem X. internationalen medizinischen Kongreß in Berlin vorgelegt worden ist, und endlich in zwei in den Archiven für Physiologie erschienenen Arbeiten stellen die erwähnten Autoren fest, daß die Produkte des Bacillus pyocyaneus die Erregbarkeit der vaso-dilatatorischen Nerven herabsetzen und auf diese Weise den arteriellen Blutdruck erhöhen. Einige Jahre später (1893) kamen sie wieder auf ihre Versuche zurück und bestätigten die beobachteten Tatsachen. Sie sahen jedoch, daß bei Injektion starker Dosen von Pyocyaneus-Toxin die arterielle Hypertension von einer Verstärkung der Ventrikelsystolen begleitet war, eine Erscheinung, die sie auf den Gedanken brachte, daß das Gift direkt auf den zentralen Kreislaufsapparat einwirke.

Auf diesem Wege nun wurden die Untersuchungen weiter verfolgt; in Frankreich besonders untersuchten mehrere Forscher die Wirkungen der Bakterien und ihrer Produkte auf die Blutzirkulation und den Vasomotorenapparat.

Eine arterielle Hypertension rufen hervor: der Pyocyaneus (Charrin und Gley 1890, 1893; Marat und Doyon 1891, Pässler und Romberg 1896), der Staphylococcus (Rodet und Courmont 1893). Eine arterielle Hypotension dagegen bedingen: der Diphtheriebacillus (Enriquez und Hallion 1895, 1898; Beck und Slapa 1895, Pässler und Romberg 1896, Moulinier 1898, Rolly 1899, v. Steyskal 1902), das Tuberkulin (Bouchard 1891), der Urin der Tuberkulösen (Charrin und Le Noir 1893), das Pneumobacillin (Guinard und Artaud 1895, Teissier und Guinard 1897), das Mallein (Guinard und Artaud 1898), der Colibacillus (Roger 1900) und der Pneumococcus (Pässler und Romberg 1896).

Diese Wirkungen auf die Schwankungen der Spannung sind indessen nicht immer von langer Dauer oder stabil, sondern es handelt sich in den meisten Fällen um eine der Toxin- oder Kulturinjektion unmittelbar

3) Bezüglich des Verhaltens des arteriellen Druckes bei Infektionskrankheiten siehe die jüngst erschienene zusammenfassende Arbeit von K. Weigert, Ueber das Verhalten des arteriellen Blutdruckes bei den akuten Infektionskrankheiten. (Samml. klin. Vortr., inn. Med. 1907. No. 138.)

folgende Erscheinung; später reguliert sich der Druck wieder und nähert sich der normalen Höhe, wenn es ihm auch nicht gelingt, sie ganz genau wieder zu erreichen. Und sogar diese Erniedrigungen oder Erhöhungen des Druckes sind im allgemeinen nicht immer kontinuierlich und schrittweise, sondern sie sind von plötzlichen, schnellen und starken Sprüngen unterbrochen, die besonders dann erkennbar sind, wenn der Druck den Gleichgewichtszustand wieder erreichen will.

Auch ohne in eine Kritik dieser Versuche einzutreten, muß man gleich bemerken, daß die Beobachtungen der Erscheinungen von den Autoren nur während einer sehr beschränkten Zeit der Infektion oder Intoxikation und im allgemeinen im Anschlusse an reichliche Injektionen von Kultur oder Toxin angestellt worden sind. Dies ist sicherlich, wenigstens zum großen Teile, auf die angewandten Untersuchungsmethoden zu schieben; die sphygmographische Methode gestattet zwar eine exakte Registrierung der Erscheinungen, aber nur während einer zu kurzen Zeitdauer. Man müßte die Beobachtung der hydraulischen Störungen des Kreislaufes auf die ganze Dauer des experimentellen Krankheitszustandes ausdehnen und hierbei die klinischen Symptome, die anatomischen Veränderungen, die Temperatur, die Genesung oder den Tod berücksichtigen können. Wie dem auch sein mag, den bis jetzt gewonnenen Resultaten kann man doch nicht ihren großen Wert absprechen. Es bleibt noch festzustellen, daß die bakteriellen Gifte in ähnlicher Weise wie die anderen pflanzlichen, tierischen und mineralischen Gifte einen Einfluß auf den Blutdruck ausüben.

Es ist nun schwierig, in exakter Weise die Ursache dieser Blutdruckschwankung festzustellen. Sicherlich haben die Toxine einen direkten Einfluß auf den vasomotorischen Nervenapparat; sie erzeugen nämlich peripherische Gefäßparalysen und -verengerungen, andererseits kann man ihnen aber eine direkte Wirkung auf das Herz nicht absprechen, da die Tätigkeit desselben von ihnen gesteigert oder verringert wird. Das Studium der Sphygmogramme oder noch besser die Versuche am isolierten Frosch- oder Schildkrötenherzen zeigen diese direkte Wirkung auf den Herzmuskel. Es bleibt indessen noch festzustellen, ob das bakterielle Gift direkt die Muskelfaser oder nicht vielmehr die Herzganglien beeinflußt. So führen zur Erklärung der durch das Diphtherietoxin bedingten arteriellen Hypotension Enriquez und Hallion, Pässler und Romberg eine peripherische Gefäßerweiterung durch Lähmung des bulbären vasokonstriktorischen Zentrums an, während Moulinier die Ansicht vertritt, daß sie durch eine Schwäche der Ventrikelsystolen verursacht sei, eine Meinung, die Rolly durch seine Versuche an isolierten Herzen bestärkt.

Da ich mich für einige meiner Untersuchungen mit der Wirkung einer Varietät des Streptococcus pyogenes auf das Herz- und Gefäßsystem beschäftigen mußte, so beschloß ich, diesen Keim in seinen Eigenschaften der Bluthydraulik gegenüber zu studieren, um so mehr, als meines Wissens diese Eigenschaften des Streptococcus bisher noch nicht untersucht worden waren.

Meine Untersuchungen wurden mit dem Ludwigschen Kymographion angestellt, das mit einer rotierenden Trommel verbunden war. Als Versuchstier gebrauchte ich das Kaninchen, dessen ich mich auch bei den oben erwähnten Untersuchungen bedient hatte. Wenn auch die

Kleinheit der arteriellen Gefäße des Kaninchens die sphygmographische Technik schwieriger macht (leichte Gerinnselbildung in der Kanüle), so erzielt man doch bei diesem Tiere, das für die Streptokokkeninfektion sehr empfänglich ist, sehr klare und, wie wir sehen werden, vor allem übereinstimmende Resultate.

Ich gebe ohne weiteres die bei diesen ersten Versuchen erhaltenen Resultate wieder und erkläre hier gleich, daß sie nur den Zweck haben, über das Verhalten des arteriellen Druckes in den ersten Zeiten einer experimentellen Streptokokkeninfektion Aufschluß zu geben.

Kaninchen 1. Karotidendruck ungefähr 100—110 mm Hg. Endovenöse Injektion von 2 ccm einer 5 Tage alten Streptokokkenbouillonkultur. $^1/_2$ Stunde nach der Injektion ist der Druck auf 65—70 mm gesunken, hat aber eine leichte Tendenz wiederanzusteigen; die Pulsationen erscheinen kleiner und etwas unregelmäßig, respiratorische Veränderungen beobachtet man nicht. (Der Versuch wird aufgehoben.)

Kaninchen 2. Karotidendruck ungefähr 120 mm Hg. Injektion von 2 ccm einer 15 Tage alten Streptokokkenbouillonkultur. Gleich nach der Injektion bemerkt man eine leichte Erhöhung des Druckes — 140 mm —; die Pulsationen sind häufiger und kleiner, unmittelbar darauf jedoch werden die Pulsationen langsamer und voller und der Druck hat eine Neigung zum Sinken; $^1/_4$ Stunde nach der Injektion kommt er auf 100 mm. Man konnte die Beobachtung nicht verlängern, weil das Tier Krampferscheinungen zu zeigen begann. Der Druck stieg sprungweise bis auf 220 mm unter vollen, langsamen und sehr unregelmäßigen Pulsationen; dann folgte eine agonale Periode mit ganz niedrigem Drucke und schließlich der Tod.

Kaninchen 3. Karotidendruck 125 mm Hg. Endovenöse Injektion von 5 ccm einer 40 Tage alten Streptokokkenbouillonkultur. Unmittelbar danach Ansteigen des Druckes auf 140 mm und darauf Sinken; 5 Minuten nach der Injektion beträgt der Druck 100, nach 10 Minuten 95 und nach 15 Minuten 75 mm. Dieses Sinken tritt nach und nach kontinuierlich ein, die Pulsationen sind ziemlich regelmäßig und kräftig. Ungefähr $^1/_2$ Stunde nach der Injektion will der Druck wieder ansteigen, die Pulsationen sind kleiner und häufiger. Die Beobachtung wird aufgehoben.

Kaninchen 4. Karotidendruck 125 mm Hg. Endovenöse Injektion von 5 ccm einer 14 Tage alten Streptokokkenbouillonkultur. Ein Gerinnsel in der Kanüle verhindert die Registrierung der unmittelbar auftretenden Erscheinungen. Nach 15 Minuten wird der Druck auf 75 mm reduziert, nach 45 Minuten ist er wieder auf 95 mm gestiegen. Dieses Wiederansteigen des Druckes ist durch Sprünge, durch plötzliche Senkungen und Steigungen, charakterisiert. An diesen Stellen sind die Pulsationen voller und langsamer, aber ziemlich regelmäßig. Die Atemzüge sind unregelmäßig und ein wenig häufiger.

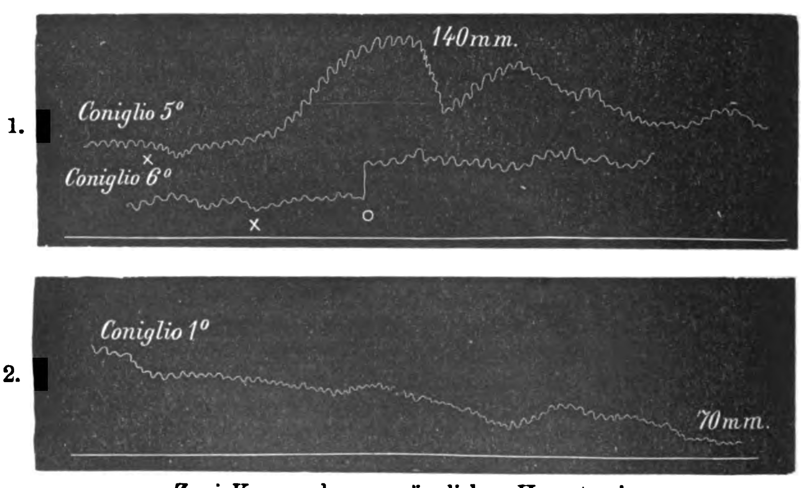
Kaninchen 5. Karotidendruck 110 mm Hg. Endovenöse Injektion von 5 ccm einer 10 Tage alten Streptokokkenbouillonkultur. Unmittelbar darauf Ansteigen des Druckes bis auf 130—140 mm; die Pulsationen sind unregelmäßig, kräftiger und langsamer, die Atemzüge unregelmäßig. Gleich darauf sinkt der Druck nach und nach und kommt auf 95 mm; nach $^1/_2$ Stunde steigt er wieder auf 100 mm; diese Steigerung findet aber in plötzlichen Sprüngen statt. Die Atmung erleidet eine Veränderung und die Pulsationen sind unregelmäßig, aber kräftig.

Zweite endovenöse Injektion von 5 ccm. Im Anfange findet eine ganz leichte Drucksteigerung statt, dann folgt ein allmähliches Sinken, so daß der Druck $^1/_2$ Stunde nach der 2. Injektion bis auf 55 mm fällt. Nach dieser Zeit treten wieder Sprünge ein, aber sie fallen weniger in die Augen als nach der 1. Injektion. Puls und Atmung sind unregelmäßig. Der Druck hat die Neigung, wieder anzusteigen, aber er erreicht nicht mehr die normale Höhe; $^3/_4$ Stunde nach der 2. Injektion beträgt er 95 mm. Die Beobachtung wird aufgehoben.

Kaninchen 6. Karotidendruck 110 mm Hg. Endovenöse Injektion von 1 ccm Filtrat einer 9 Tage alten Streptokokkenbouillonkultur. Die Veränderungen der Kurven sind sehr gering; es tritt unmittelbar nach der Injektion nur eine leichte Steigung und dann eine ebenso leichte Senkung der Blutdruckes ein.

$^1/_4$ Stunde nach der 1. Injektion findet eine 2. von 1 ccm Filtrat statt. Die Erscheinungen sind hier viel deutlicher. Der Blutdruck steigt anfänglich (30 Sekunden nach der 2. Injektion) auf 130 mm und fällt dann nach uud nach bis auf 105—100 mm. Nach ungefähr $^1/_4$ Stunde steigt der Druck wieder, Atmung und Puls sind unregelmäßig. Der Druck erreicht die normale Höhe nicht wieder. Die Beobachtung wird aufgehoben.

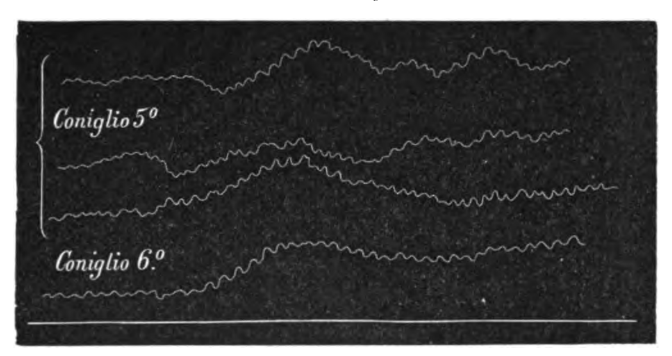
Diese Beobachtungen lassen folgende Tatsachen erkennen: Im Anschlusse an die endovenöse Injektion von 5—10—15—40 Tage alten Streptokokkenbouillonkulturen in Mengen von 2—5 ccm treten Veränderungen in der Bluthydraulik ein, wobei das Variieren der Menge und des Alters der Kultur nur geringe Differenzen bedingt. Diese Veränderungen bestehen in einer sich unmittelbar an die Injektion anschließenden Drucksteigung, auf die eine schrittweise Senkung folgt. Nach ungefähr



Zwei Kurven der ursprünglichen Hypertension.
1. × Injektion der Kultur; o der Cylinder wurde nach 30″ in Bewegung gesetzt.
2. Sinken des Blutdruckes.

$^1/_2$ Stunde steigt der Druck wieder bis fast zur normalen Höhe, aber die Steigung geht nicht mehr langsam und schrittweise vor sich, sondern vollzieht sich sprungweise und unter Veränderungen des Atmungs-

rhythmus und ist oft von fast krampfartigen Bewegungen der Tiere begleitet. Die Pulsationen sind im allgemeinen während der Blutdruck-



3. Verschiedene Typen von plötzlichen Steigerungen des Blutdruckes.

senkung kleiner und häufiger, während sie voller, langsamer und unregelmäßig während des sekundären Steigens werden. Der Atmungsrhythmus scheint nur während der primären und sekundären Druckveränderungen verändert zu sein.

Läßt man auf eine erste Injektion eine zweite folgen, wenn die sphygmographische Kurve schon fast die Norm (nach ungefähr $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde) erreicht hat, so sieht man eine Wiederholung derselben Reihenfolge der Erscheinungen. Der Organismus scheint sich also nicht, wenigstens bei 2 aufeinander folgenden Injektionen, an die Einführung dieser Gifte zu gewöhnen. Meistens erreicht der Druck, auch $^3/_4$—1 Stunde nach der 2. Injektion nicht die normale Höhe.

Die Injektion von Bouillonkulturfiltrat erzeugt ganz ähnliche Wirkungen.

Die erste kritische Bemerkung, die man zu diesen Resultaten machen könnte, würde darin bestehen, daß man sie einfach auf die Einführung der zur Kultur verwandten Peptonbouillon in das Gefäßsystem zurückführt. Von dieser Vorstellung ausgehend, habe ich einige Versuche angestellt, welche mich davon überzeugten, daß endovenöse Injektionen von Peptonbouillon, auch in beträchtlichen Mengen, die sphygmographische Kurve durchaus nicht ungünstig beeinflussen, wenn man die Injektion nur schrittweise und nicht in zu plötzlicher Weise vornimmt.

Ich gebe hier eine Beobachtung wieder, die ich an einem Tiere gemacht habe:

Kaninchen. Karotidendruck 115 mm Hg. Man injiziert in verschiedenen Absätzen im ganzen 25 ccm Peptonbouillon, und zwar jedesmal 5 cm. Unmerkliche Schwankungen in der sphygmographischen Kurve. Am Schlusse des Versuches (nach ungefähr 1 Stunde) sieht man den Blutdruck zwischen 115—120 mm schwanken; Auftreten von geringer Dyspnoe. Das Tier leidet absolut nicht unter den Injektionen und dient zu weiteren Versuchen.

Ist so diese mögliche Ursache eines Irrtums ausgeschlossen, so muß man annehmen, daß unmittelbar im Anschlusse an die Injektion von Bakterienkulturen Störungen in der Bluthydraulik auftreten. Während

wir wissen, daß auf die Inokulation von Keimen oder Toxinen eine mehr oder weniger lange Periode der Ruhe folgt, in welcher nennenswerte klinische oder anatomische Erscheinungen nicht auftreten („Latenzperiode der Infektion"), sehen wir dagegen bei unseren Untersuchungen, daß diese Periode von wichtigen Veränderungen in der Bluthydraulik eingenommen ist. — Wenn ich „Latenzperiode der Infektion" gesagt habe, so will ich übrigens damit nicht die Inkubationsperiode der Infektionskrankheiten bezeichnen. — Denn es ist ein zu großer Unterschied zwischen der Entstehung einer spontanen Infektionskrankheit bei einem Tiere und einer gewaltsamen Einführung einer verhältnismäßig sehr großen Menge von Keimen, welche schon virulent und unter zur Entfaltung ihrer pathogenen Wirkung geeignetere Bedingungen gebracht sind. Es besteht jedoch die Tatsache, daß auch in diesen letzten Fällen für alle Keime eine mehr oder weniger lange Ruheperiode hinsichtlich der klinischen und anatomischen Symptome vorhanden ist, in welcher sich diese Veränderungen am Kreislaufe entwickeln.

Augenscheinlich kann man in meinen und den Versuchen anderer Autoren, die mir vorangegangen sind, nicht mit Genauigkeit von Erscheinungen sprechen, welche man während der Infektion beobachtet hat. Die injizierte Kultur wirkt nämlich in den ersten Augenblicken durch ihre chemischen und nicht durch die biologischen Eigenschaften der in ihr enthaltenen Keime, denn die Injektion von Kulturfiltraten liefert in der Tat dieselben Resultate. Es handelt sich also um eine Intoxikation und nicht um eine wahre Infektion. Dies ist auch der Grund, weshalb ich die vorliegende Arbeit „Wirkung der toxischen Produkte des Streptococcus auf den Blutdruck" betitelt habe und weshalb ich auf der Erklärung bestehe, daß das Studium der hydraulischen Veränderungen bei den experimentellen Infektionskrankheiten auch in einer von der Inokulation des Keimes entfernt liegenden Zeit fortgesetzt werden müßte.

Eine physiologische Erklärung der Erscheinung zu geben, ist nicht leicht und hier auch absolut unmöglich, da man noch andere, durch ergänzende Beobachtungen gewonnene Angaben besitzen müßte, welche eine besondere Technik und besondere Apparate erfordern (Wirkung der Kulturen auf das isolierte Herz, auf die Atmung, die Geschwindigkeit und die Masse des Blutes, auf die vasomotorischen und die cardioregulatorischen Apparate). Indessen schon aus diesen Versuchen, welche einen, ich möchte sagen, gewissermaßen vorläufigen Charakter gegenüber anderen haben, die noch auf diesem Gebiete ausgeführt werden können, kann man ersehen, daß bei gleichbleibender Blutmasse die Veränderungen des arteriellen Druckes aller Wahrscheinlichkeit nach von peripherischen vasomotorischen Erscheinungen (die ich jedoch nicht habe nachweisen können, die man aber entsprechend den bei anderen Keimen gemachten Beobachtungen annehmen kann) und zweifelsohne auch von Veränderungen der Herzkontraktionen abhängen, für welche die sphygmographischen Kurven einen Beweis liefern. Diese Veränderungen der Herzkontraktionen könnten entweder durch eine Wirkung auf die bulbären Zentren oder auf die intrakardialen Ganglien oder endlich auf die Herzmuskelfaser selbst bedingt sein. Der rasche Einfluß, welchen die Bakterienprodukte auf den vasomotorischen Apparat ausüben, würde daran denken lassen, daß auch die Veränderungen der Herzkontraktionen durch Störungen nervöser (zentraler oder peripherischer?) Einflüsse bedingt würden. Manche Autoren haben das Auftreten der Zu- und Abnahme der Kontraktionen

als eine einfache Kompensationserscheinung deuten wollen, d. h. bei einem Tief- oder Hochstande des Druckes im arteriellen System (infolge vasomotorischer Erscheinungen) würden die Kontraktionen versuchen, ihn durch Zu- oder Abnahme ihrer Stärke zu regulieren. Diese Deutung, welche in manchen Fällen richtig sein kann, hat für den vorliegenden Fall keine Gültigkeit; wir sehen nämlich, daß nach Injektionen von Streptokokkenkultur die Pulsationen mit dem Steigen des Druckes wachsen und mit seinem Sinken abnehmen. Diese Erscheinung ist also primär und aktiv, und nicht sekundärer und kompensatorischer Natur.

Die oben auseinandergesetzten Tatsachen und Erklärungen beschränken sich natürlich nur auf die Beobachtungen, die ich nach der Injektion einer Bouillonkultur einer Streptokokkenvarietät gemacht habe; weiter oben habe ich summarisch die Beobachtungen anderer Autoren an anderen Keimen angeführt, welche je nach dem eingeimpften Keime zu verschiedenen Resultaten kamen. Aus allen diesen Versuchen geht jedoch deutlich die Tatsache hervor, daß die Bakterienprodukte eine unmittelbare, sehr merkliche Wirkung auf diejenigen Apparate ausüben, welche den Blutdruck regulieren.

Die Kenntnis, die wir von diesen Erscheinungen haben, ist noch sehr unvollkommen, denn die Beobachtungen beschränken sich auf eine zu kurze Zeit, und wir kennen, und zwar auch nur für wenige Keime, nur diejenigen Erscheinungen, die unmittelbar im Anschlusse an die Impfung auftreten. Es wäre nun von großem Interesse, diese hydraulischen Veränderungen zu verfolgen und sie mit den Erscheinungen in der menschlichen Pathologie zu vergleichen, wo sie durch so viele störende Umstände verdeckt sind.

Meistenteils haben die Beobachtungen, die wir über die hämodynamischen Veränderungen bei experimentellen Infektionen besitzen, den großen Fehler, daß sie alle unzusammenhängend und von verschiedenen Autoren mittels verschiedener Apparate angestellt sind. Dies bedingt dann eine Verschiedenheit in den Deutungen und Messungen und gibt dadurch Anlaß zu schweren Irrtümern. Eine gemeinsame Arbeit über diesen Gegenstand würde eine Lücke ausfüllen und uns Kenntnis von Tatsachen geben, die für die Pathologie der Infektionskrankheiten von großer Wichtigkeit wären.

Literatur.

Arloing, De l'influence des produits du culture du staphylocoque doré sur le système nerveux vaso-dilatateur et sur la formation du pus. (Compt. rend. acad. d. sciences. Paris. T. CXIII. 1891. p. 36.)

Beck u. Slapa, Ueber den Einfluß des Diphtheriegiftes auf den Kreislauf. (Wien. klin. Wochenschr. 1895. No. 18.)

Bouchard, Actions vasomotrices des produits bactériens. (Compt. rend. acad. d. sciences. Paris. T. CXIII. 1891. p. 524.)

Charrin et Gley, Action des substances microbiennes sur les appareils nerveux vaso-dilatateurs chez les animaux vaccinés. (Compt. rend. soc. biol. Paris. 1893. Novembre. p. 921.)

— —, Mode d'action des substances produites par les microbes sur l'appareil circulatoire. (Compt. rend. acad. d. sciences. Paris. T. LXVI. 1893. p. 1475.)

Charrin et Le Noire, Proprieté vaso-dilatatrice des urines des tuberculeux. (Compt. rend. soc. biol. Paris. 1893. juillet. p. 769.)

— et Teissier, Modifications de la pression artérielle sous l'influence des toxines pyocyaniques. (Compt. rend. acad. d. sciences. Paris. T. LXVI. 1893. p. 151.)

Enriquez et Hallion, Sur les effets physiologiques de la toxine diphtérique. (Arch. physiol. norm. et path. Série 5. T. VI, 1895. p. 515.)
— —, Recherches expérimentales sur la toxine diphtérique. (Ibidem. Série 5. T. VIII. 1898. p. 393.)
Guinard et Artaud, De la periode latente des empoisonnements par injections veineuses des toxines microbiennes. (Compt. rend. soc. biol. Paris. 1895. Mars. p. 137.)
— —, Sur quelques effets physiologiques déterminés par les produits solubles du Pneumobacillus liquefaciens bovis. (Ibid. 1895. Mars. p. 173.)
— —, Étude comparée des certaines modifications cardio-vasculaires produites par la malleine et la tuberculine. (Ibidem. 1895. avril. p. 274.)
Morat et Doyon, Action physiologique des produits sécretés par le bacille pyocyanique. (Lyon méd. 1891. Mai.)
Moulinier, Du mécanisme des troubles circulatoires dans l'intoxication diphtérique expérimentale aiguë. (Thèse de Bordeaux. 1898.)
Pässler u. Romberg, Weitere Mitteilungen über das Verhalten von Herz und Vasomotoren bei Infektionskrankheiten. (Verh. d. Kongr. inn. Med. Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1896. p. 918.)
Rodet et Courmont, Étude expérimentale des substances solubles toxiques élaborées par le staphylocoque pyogène. (Revue de méd. T. XIII. 1893. Févr. p. 81.)
Roger, Étude sur la toxicité des produits solubles du B. coli. (Arch. de physiol. T. V. 1893. Juillet.)
—, Action des toxines du colibacille de la dysentérie sur la circulation et la respiration. (Presse méd. 1900. No. 91. p. 315.)
Rolly, Ueber die Wirkung des Diphtheriegiftes auf das Herz. (Arch. exper. Path. u. Pharm. Bd. XLII. 1899. p. 283.)
Steyskal, Kritisch-experimentelle Untersuchungen über Herztod infolge von Diphtherietoxin. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLIV. 1902. Heft 5—6.)
Teissier et Guinard, Recherches expérimentales sur les effets des toxines microbiennes. (Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. Série 1. T. IX. 1897. p. 994.)
Vaschide et Lachy, La technique de la mesure de la pression sanguine, particulièrement chez l'homme. (Arch. générales de méd. T. VIII. 1902. p. 349.)
— —, Les données expérimentales et cliniques de la mesure de la pression sanguine. (Ibid. p. 711.)

Uebertragungsversuche der Spirochaete gallinarum durch Argas reflexus Fabr.[1]

[Aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte.]

Von Dr. phil. **C. Schellack.**

In einer kurzen Mitteilung im „Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene. Bd. XII. 1908“ berichten Fülleborn und Mayer von Versuchen, die feststellen sollen, ob die Uebertragung pathogener Spirochäten nur durch bestimmte, für jede Spirochätose spezifische Zecken erfolgt, wie es bisher schien, oder ob nicht vielmehr dieselbe Spirochätenart durch verschiedene Zecken übertragen werden kann. Die Entscheidung dieser Frage ist — abgesehen von ihrer praktischen Bedeutung — schon deshalb von Interesse, weil auch von den Trypanosomenkrankheiten bekannt ist, daß sie sicher nicht alle ihren spezifischen Ueberträger haben (z. B. kann die Glossina morsitans, pallidipes und palpalis das Trypanosoma Brucei, Glossina palpalis außer dem Trypanosoma gambiense noch die Trypanosomen der „Jinja“, „Abyssinian Fly-Disease“ und „Mule-Disease“ übertragen usw.). Fülleborn und Mayer fanden als ersten analogen Fall bei den Spirochäten,

1) Die ausführliche Arbeit erscheint in den „Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte“.

daß die Spirochaete gallinarum, als deren sichere Ueberträgerin im Verbreitungsgebiet der Krankheit die amerikanische Zecke Argas miniatus festgestellt ist, im Versuch auch durch die afrikanische Zecke Ornithodorus moubata, die Ueberträgerin des Zeckenfiebers, auf Hühner übertragen werden kann. Zecken, die zweimal an infizierten Hühnern gesogen hatten, waren noch nach 103 Tagen infektiös.

Als einen weiteren ähnlichen Fall kann ich jetzt positive Versuche der Uebertragung der Hühnerspirochäten mit Argas reflexus anführen. Diese Argasart soll nach Dönitz (Die wirtschaftlich wichtigen Zecken) in ganz Europa vorkommen, in Deutschland aber sehr selten geworden sein (Umgegend von Frankfurt a. M. und Berlin), während sie auffälligerweise in den Jahren, als die Recurrens in Deutschland häufiger war, auch hier verbreiteter gewesen sein soll. Persönliche Nachforschungen in Magdeburg führten mich zu dem Ergebnis, daß sie hier durchaus nicht so selten ist, wie man vermutet, und zwar nicht nur in der Stadt selbst, sondern auch in der weiteren Umgebung (vergl. Dr. Schnee, Ueber das Vorkommen von Argas in Deutschland [Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. Bd. XII. 1908]). Auf zwei Taubenschlägen fand ich sie im Herbst noch in ziemlich großer Zahl, im März seltener, und die Besitzer behaupten, daß sie im Frühjahr noch bedeutend häufiger sei; bei den Händlern scheint sie unter dem Namen „Lederwanze" ziemlich allgemein bekannt zu sein. Sie lebt des Tages zwischen Ritzen und Balken, vor allem in der Nähe der Brutstätten verborgen, aus denen sie des Nachts hervorkommt, um an den Tauben zu saugen; sie bevorzugt dabei die nackten Stellen unter den Flügeln und am After. Das Auftreten der Zecken soll im Frühjahr so massenhaft und die Belästigung stellenweise so groß sein, daß die Aufzucht junger Tauben unmöglich ist, da sie an den Bissen der Zecken zugrunde gehen. Daß die Taubenzecken auch den Menschen angefallen haben sollten, wurde mit Bestimmtheit in Abrede gestellt. Aus den Angaben von Brandes, Argas reflexus als gelegentlicher Parasit des Menschen (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. 1897. p. 747) geht aber hervor, daß sie sicher auch am Menschen saugen.

Die Uebertragungsversuche, deren Ergebnisse kurz angeführt seien, erstreckten sich ebenfalls auf Spirochaete gallinarum und wurden an Hühnern ausgeführt (über diese und weitere Versuche wird in den „Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt" ausführlicher berichtet werden). Sie verliefen nicht in allen Fällen positiv. Es ist sehr schwer, die Zecken direkt vom kranken auf das gesunde Huhn zu übertragen; nur mit zwei Zecken gelang ein solcher Versuch, der aber keine Infektion ergab[1]. Von sechs anderen Fällen mit längeren Pausen nach dem ersten Saugen waren zwei positiv, zwei negativ und zwei nicht ganz einwandfrei. Der erste positive Fall wies eine auffallend lange Inkubationszeit auf: Vier Zecken sogen am 8. Aug. 1907 am infizierten Huhn und wurden nach 7 Tagen an ein gesundes gesetzt, das 16 Tage darauf Spirochäten im Blut zeigte und daran einging (bei Argas miniatus treten die Spirochäten am 6. oder 7. Tag nach dem Saugen auf). Eine einzelne dieser Zecken, die nach 15 Tagen an ein gesundes Huhn gesetzt wurde, vermochte nicht zu infizieren.

---

1) Der Einwand, daß die Zahl der Zecken zu gering gewesen sei, scheint mir nicht ganz stichhaltig, denn wie ein Versuch mit Argas miniatus zeigte, übertragen zwei dieser Zecken noch mit Sicherheit.

Im zweiten positiven Versuch wurden sechs Zecken angesetzt, von denen zwei zum letzten Mal 64 Tage vorher am kranken Huhn gesogen hatten, fünf 78 Tage vorher und einzelne im Laufe des vorhergehenden Halbjahres noch zweimal. Am 8. Tage nach dem Saugen wurden Spirochäten im Blut gefunden. Das Huhn überstand die Infektion.

In den zwei sicher negativen Versuchen wurden nach einer Pause von 11 bezw. 4 Tagen drei bezw. fünf Exemplare angesetzt; einen sicheren Grund, weshalb die Infektion nicht erfolgte, vermag ich nicht anzugeben. Die Zecken wurden nach der ersten Infektion bei einer Temperatur von ca. 35° C gehalten, die aber einige Male für etwa 12 Stunden auf ca. 20° herabging. Eine Nachimpfung der Hühner mit spirochätenhaltigem Blut ergab eine starke Infektion, die bei einem der Hühner etwas verzögert auftrat.

Festgestellt ist also, daß die Spirochaete gallinarum außer durch Argas miniatus und Ornithodorus moubata auch durch Argas reflexus übertragen werden kann; die Zecken waren nach 64 Tagen noch infektiös.

Eine Einschleppung der Hühnerspirochätose nach Deutschland wäre, da es feststeht, daß Argas reflexus nicht nur in Tauben-, sondern auch Hühnerställen vorkommt, schließlich wohl denkbar, aber angesichts der Seltenheit der Argas reflexus ziemlich bedeutungslos.

Veränderungen der Bakterien im Tierkörper.

II. Die Kapselbildung von Milzbrandbacillen.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität Prag (Vorstand Prof. Hueppe).]

Von Prof. Dr. **Oskar Bail.**

(Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.)

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Veränderungen, welche Bakterien im Tierkörper während einer Infektion aufweisen, von großer Bedeutung für das Infektionsproblem sind und weite, vielleicht allgemeine Verbreitung haben. Sie sind morphologischer und physiologischer Art, indem die „tierischen" oder „animalisierten" Bakterien anders aussehen und überdies andere Eigenschaften haben, von denen die mehr oder weniger erhöhte Widerstandskraft gegen die Säfte und Zellen des Tierkörpers vielleicht die bedeutungsvollsten sind.

Am leichtesten sind sie am Milzbrandbacillus zu studieren und haben bei diesem Bacillus auch zuerst theoretische Wichtigkeit erhalten. Bereits sehr frühzeitig war man auf das abweichende Aussehen des Milzbrandbacillus im Tierkörper im Vergleich zu dem in künstlichen Kulturen aufmerksam geworden, worüber man in jedem Lehrbuche Angaben findet. Auch die Bildung einer Kapsel ist frühzeitig beschrieben worden [Johne[1]), Sawtschenko 1897[2]) u. A.].

1) Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin. 1893. p. 813. Johne hat auch die Kapselbildung in vitro in Seren bereits beobachtet (Baumgartens Jahresbericht. 1894. p. 132) und verweist auf eine Arbeit von Serafini. 1888.

2) Annales de l'Institut Pasteur. 1897. p. 873.



Danysz[1]), dessen Versuche in späteren Abschnitten noch ausführlich berücksichtigt werden, fand die Bildung einer Kapsel in Kulturen mit Rattenserum. Deutsch[2]) beobachtete besonders genau die Vorgänge bei der intraperitonealen Milzbrandinfektion von Meerschweinchen und fand, daß die injizierten Bacillen den Leukocyten erliegen, während eine nach Stunden auftretende zweite Generation anders aussieht, Kapseln hat und den Leukocyteu widersteht. Löhlein[3]) bestätigte diese Versuche und erweiterte sie dahin, daß „Kapselbacillen" auch der Phagocytose im Reagenzglasversuche widerstehen. Gruber und Futaki[4]) stellten das Gleiche fest und unternahmen Versuche über die Kapselbildung durch Serum in vitro. Von anderen Autoren, welche dem besonderen Verhalten des Milzbrandbacillus ihre Aufmerksamkeit zuwendeten, seien noch Ascoli[5]) und Preisz[6]) genannt, welcher eine Methode zur Gewinnung der Kapselsubstanz in größerer Menge angab und die Aufgabe derselben in dem Auftreten der Blutbakterizidie sieht.

Die vorstehend mitgeteilten Angaben der Literatur lassen sich leicht im Versuche bestätigen. Sowohl im infizierten Tierkörper wie bei der Züchtung im Blut und Serum erscheinen die Bacillen in ganz anderer Form wieder, als bei Züchtung auf den gebräuchlichen Nährböden. Dabei darf man allerdings nicht außer acht lassen, daß die Formverhältnisse des Milzbrandbacillus an sich gewissen Schwankungen unterliegen. Die zwei zu den Versuchen verwendeten Milzbrandstämme zeigten z. B. in Bouillon und auf Agar ein deutlich abweichendes Aussehen, indem die Fäden in Bouillon, welche meist auch mit Karbolmethylenblau sich tiefer färbten, schlanker und dünner aussehen als auf Agar[7]).

Im Tierkörper sowie bei der Züchtung in tierischen Flüssigkeiten werden die Bacillen im allgemeinen dicker, die einzelnen Fadenglieder meist auch plumper und umgeben sich mit einer mehr oder minder mächtigen Kapsel. Aber vollständig übereinstimmende Bilder erhält man bei genügend zahlreichen Versuchen nicht. Es kam vor, daß Bacillen, die nicht viel dicker aussahen als die von Agar herstammenden, mächtige Kapseln zeigten, während solche, die sehr plump und kurz aussahen, nur ganz schwache Säume von solchen hatten. Auch im Körper eines und desselben infizierten Tieres bemerkt man Verschiedenheiten, von denen namentlich eine ganz regelmäßige, beim subkutan geimpften Kaninchen hervorgeboben sei. Im Oedem solcher Tiere sieht man Bakterien, die wie Bruchstücke aus längeren Fäden aussehen, aber keine Trennung in einzelne Glieder erkennen lassen. Sie sind dick, färben sich aber in den mittleren Partieen nur wenig, während der Rand beiderseits als tiefgefärbte, oft durch feinste Zwischenräume unterbrochene Leiste erscheint, die nach außen zu keine Kapsel zeigt. Im Blute des gleichen Tieres findet man die mehr typischen dicken kurzen Fäden mit starker Kapsel. Das eigentümliche Aussehen der „Oedembacillen" fand

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1889. p. 641.
2) Deutsch (Detre) und Feistmantel, Die Impfstoffe und Sera.
3) Dieses Centralbl. Bd. XXXVIII. 1906. Referate. Beiheft p. 32.
4) Ebenda p. 12; ferner Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 6.
5) Pubblicazione dell'Instituto sieroterapeutica Mitanese Vol. III. 1907. No. 9—10.
6) Pester med. chirurg. Presse. 1907. No. 28. Dieses Centralbl. Bd. XLIV. p. 209.
7) Den einen erhielt ich vor Jahren vom Kollegen Sobernheim; er hatte seither zu sehr zahlreichen Tierversuchen gedient. Der andere stammt von einem Fall von Pustula maligna beim Menschen. Die Aggressivität beider Stämme war eine absolute: jede Dosis, in der überhaupt noch Bacillen verwendet werden konnten, tötete Kaninchen bei subkutaner Infektion.

sich öfters auch in Kulturen, namentlich in Pferde- und Rinderserum. So muß man bei Versuchen auf eine gewisse Variation der morphologischen Befunde gefaßt sein und es hat sich bisher kein Anhaltspunkt dafür ergeben, daß bestimmte Bedingungen bestimmte Formen mit Regelmäßigkeit hervorbringen. Im ganzen wird man aber bei einiger Uebung nur selten in Verlegenheit kommen, einen Milzbrandbacillus aus der Kultur von einem „tierischen“ [1]) oder „animalisierten“ zu unterscheiden [2]).

Eines der auffälligsten Merkmale der tierischen Bacillen ist die Ausbildung einer Kapsel, die sich im ungefärbten Präparate bereits mit Leichtigkeit erkennen und mit Karbolmethylenblau leicht färberisch darstellen läßt. Auf ihr Vorhandensein führt man die physiologischen Besonderheiten der tierischen Bacillen zurück, namentlich ihrer Widerstandskraft gegenüber der bakteriolytischen Wirkung der Körpersäfte und der phagocytären der Körperzellen, und besonders Preizs, aber auch Gruber und Futaki bringen die Fähigkeit zur Bildung von Kapseln mit den pathogenen Eigenschaften des Milzbrandbacillus in die allerengste kausale Verbindung.

Es ist nun von hohem Interesse zu sehen, daß Kapselbildung nicht ganz regelmäßig vorkommt und zwar sowohl außerhalb als innerhalb des Tierkörpers. Namentlich im infizierten Kaninchen kann man leicht sehen, wie in der Milz, und wie es scheint, besonders in der Leber die wenigsten der in großer Zahl vorhandenen Bacillen Kapseln und überhaupt das charakteristische Aussehen der tierischen Bacillen aufweisen und oft genug so dünne Fäden zeigen wie in Bouillonkulturen. Obwohl alle Abstufungen im Verhältnisse der kapseltragenden und der kapselfreien Bacillen bei verschiedenen Tieren vorkommen können, so ist ein häufiger Befund doch der, daß im Oedem die oben beschriebenen Oedembacillen ausschließlich vorkommen, im Blute sich weitaus überwiegend kapseltragende Formen finden, die in der Milz einen sehr großen bis mittleren, in der Leber einen kleinen Anteil der überhaupt vorhandenen Bacillen bilden. In der Leber kann man noch vor dem Tode des Tieres, zu einer Zeit, wo das Tier noch ganz munter ist, bereits kapselfreie Kulturbacillen nachweisen.

Diesen wichtigen Befund scheinen Gruber und Futaki zu meinen, wenn sie kurz erwähnen: „Die Kapselbildung erfolgt in den tierischen Säften unter Verbrauch eines bestimmten, in ihnen enthaltenen Stoffes“ [3]). Es beweist, daß der Milzbrandbacillus auch im Tierkörper sofort auf seinen ursprünglichen, saprophytischen Zustand zurückkehrt, sobald jene Mittel des Organismus, welche ihm den abnormen Zustand aufzwingen, beseitigt sind. Es ist hier nicht der Ort, auf dieses Verhalten näher einzugehen [4]). Aber es drängt sich folgende Ueberlegung förmlich auf. Die bereits bekannten Versuchsergebnisse zeigen, daß es die Körpersäfte sind, welche den Milzbrandbacillus veranlassen, den tierischen Zustand anzunehmen, in welchem er eine so ansehnliche Widerstandskraft gegen die Wirkung von Körpersäften und Körperzellen

1) So sollen in Kürze jene Bacillen bezeichnet werden, die die Charaktere der im infizierten Tiere herangewachsenen Generationen angenommen haben.

2) Das Entstehen der Oedembacillen hat sich durch neuere Versuche aufklären lassen. Es sind tatsächlich mehr oder weniger fortgeschrittene Zerfallszustände der animalisierten Bacillen, die ziemlich hinfällige Gebilde sind.

3) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 6. Im Originale nicht gesperrt gedruckt.

4) Einiges darüber ist in einem Vortrage, der in der Prager medizinischen Wochenschrift 1908, No. 6, abgedruckt ist, gesagt worden.

annimmt, daß er ein Hemmnis für seine Ausbreitung im Tiere nicht mehr findet. Bei dieser Sachlage kann man die Körpersäfte nur noch sehr uneigentlich zu den Verteidigungsmitteln des Organismus rechnen, selbst wenn man zugibt, daß sie bei günstiger Konzentration und Wirkungsmöglichkeit Bakterien selbst abzutöten vermögen. Beim Milzbrande wäre vielmehr eine Körpereinrichtung wichtiger, welche die sonst im Tiere stattfindende Umwandlung in den tierischen Zustand verhindert. Es läßt sich leicht zeigen, daß die normalen Leukocyten dies tatsächlich können, und man wird sie daher mit viel mehr Recht zu den wirksamen Körperschutzmitteln rechnen als die Körpersäfte, zumal sie mindestens durch ihre phagocytäre Tätigkeit[3]) auch eine direkte Vernichtung der Bakterien herbeiführen.

Ueberhaupt ist die Rolle, welche die Körpersäfte bei einer Milzbrandinfektion spielen, eine sehr eigentümliche. Daß die direkte Abtötung, welche das Serum einiger wenigen Tiere auf den Milzbrandbacillus ausübt, für die Infektion keine Bedeutung hat, ist so anerkannt, daß sich ein Eingehen darauf erübrigt. Auch der Gehalt eines Serums an Immunkörpern (Ambozeptoren), der sich auf komplizierterem Wege nachweisen läßt, steht in gar keiner Beziehung zu der mehr oder minder großen Empfänglichkeit gegen eine Infektion. Phagocytosebefördernde, opsonische Wirkungen des Blutes sind gerade für Milzbrand, wo Phagocytose mit und ohne Serum gleichgut erfolgt, bedeutungslos. Und auch die Bildung tierischer, kapseltragender Generationen erfolgt bei Anwendung eines jeden Serums, mag das betreffende Tier empfänglich oder nicht empfänglich sein.

Dennoch muß die eigentümliche Beziehung, die das Blut und Serum zu der morphologischen und physiologischen Zustandsänderung der Bakterien hat, genau studiert werden. Bei der großen Schwierigkeit, das Wesen der Immunität, besonders der natürlichen, zu studieren, muß jede neue Untersuchungsmethode verwendet und so viel als möglich ausgenutzt werden. Als ein Versuch in dieser Richtung wurde die nachfolgend mitgeteilte Arbeit unternommen: Sie beschränkt sich zunächst auf das Studium der Kapselbildung durch Serum im Reagenzglase. Die eigentliche Frucht desselben kann aber erst bei der Uebertragung der gewonnenen Ergebnisse auf den Körper mehr oder minder empfänglicher Tiere geerntet werden, wie ja überhaupt die Geschichte der Erforschung der Milzbrandinfektion ein warnendes Beispiel für das Trügerische der Ergebnisse von Reagenzglasversuchen bildet.

Wie erwähnt, tritt die morphologische Zustandsänderung, welche den Milzbrandbacillus auszeichnet, in jedem Serum ein. Sie entwickelt sich sofort, sobald nur die zur Einsaat verwendeten Bakterien zu wachsen, Sporen auszukeimen beginnen. Quantitative Unterschiede in verschiedenen Seren dürften bei genauer Untersuchung namentlich mit Verdünnung des Serums aufzufinden sein. So scheint Pferde- und Rinderserum stärker zu wirken als Kaninchenserum. Doch wurde dies bisher nicht eingehender untersucht, da hauptsächlich das letztere das meist gebrauchte Versuchsobjekt darstellt.

Es fällt aber sofort auf, daß die absolute bakteriolytische Kraft eines Serums ohne jeden Einfluß auf die Kapselbildung ist. Rinder- und Pferdeserum wirkten auf die verwendeten zwei Stämme so gut wie

3) Auf die durch Gruber und Futaki entdeckten anthrakoziden Eigenschaften der Leukocyten und Blutplättchen, die an Körperflüssigkeit abgegeben werden, kann hier nicht eingegangen werden.

gar nicht abtötend oder hemmend; gleichwohl war die Kapselbildung der üppig wachsenden Bacillen mindestens ebenso stark, wie die der wenigen Keime, die in der gleichen Zeit sich mühsam in Kaninchenserum entwickelt hatten. Auch das gänzlich inoffensive Meerschweinchenserum lieferte oft exzessive Kapselbildung.

Hingegen ließ die fortlaufende Untersuchung einer in Serum angelegten Kultur bald erkennen, daß die Fähigkeit des Serums, Kapseln hervorzubringen, keine unerschöpfliche ist. Die ersten Untersuchungen einer solchen Kultur ergeben nur tierische Bacillen mit Kapsel, nach einiger Zeit aber, die in leicht begreiflicher Weise von der Höhe der Einsaat und überdies von der Art des Tierserums abhängt[1]), bemerkt man, durch Uebergänge verbunden, das Auftreten von Kulturbacillen, die dann allein übrig bleiben. In Kaninchen- und Meerschweinchenserum treten unter sonst gleichen Verhältnissen die kapselfreien Generationen früher auf als im Pferde- und Rinderserum. Das Vorkommen der Uebergangsformen erschwert einigermaßen die Deutung des mikroskopischen Bilder, und es hat einiger Mühe bedurft, ehe die sichere Erkenntnis der einzelnen Formen und ihre Beziehung zu der kapselbildenden Eigenschaft einer tierischen Flüssigkeit erlangt wurde. Es läßt sich darüber im allgemeinen folgendes aussagen.

Ist die kapselerzeugende Wirkung eines Serums ungeschwächt, so sind alle oder fast alle Bacillen sehr dick und von einer deutlichen, durch ihre Färbung leicht erkennbaren Kapsel umgeben. Dabei lassen die Bacillenfäden ihre Gliederung meist nur undeutlich wahrnehmen; die Kapsel umkleidet dieselben, indem sie im wesentlichen den Konturen der Bacillen folgt, ohne aber geradlinige Ränder zu zeigen. Dieselben sind vielmehr immer mehr oder weniger unregelmäßig, zeigen Ausbuchtungen, und namentlich beim Kaninchenserum war eine Art Verquellung der Kapselsubstanz, welche der Gliederung der Fäden in die Einzelglieder entsprach, ganz gewöhnlich.

Wird die kapselerregende Fähigkeit der tierischen Flüssigkeit auf irgend eine Weise vermindert, so sind zunächst im mikroskopischen Präparate nicht mehr alle, sondern nur einige der Bacillen noch mit der typischen Kapsel versehen; die anderen bleiben zunächst noch dicker als Kulturbacillen, aber sie besitzen nur noch einen schmalen Saum von Kapselsubstanz, wieder andere sind kapselfrei, aber noch dick, die Gliederung ist sehr deutlich und schließlich nähert sich ihre Form ganz der relativ schlanken dünnen Fäden, wie sie in Bouillon oder der aus etwas dicken kurzen Gliedern bestehenden Ketten, wie er auf Agar bei den verwendeten beiden Stämmen auftrat.

Je mehr die kapselerzeugende Fähigkeit eines Serums vermindert wird, um so mehr überwiegen die letzterwähnten Formen, bis schließlich nur durchaus kapselfreie, gut gegliederte, relativ schlanke Fäden, wie in serumfreien Nährmedien heranwachsen. Der Reichtum an verschiedenen Formen, die sich entwickeln können, ist bei genauer Beachtung ein so großer, wie man ihn bei einem so wenig morphologische Merkmale aufweisenden Lebewesen gar nicht vermuten würde. Einen Milzbrandbacillus aus einer Bouillonkultur und einen solchen, der etwa im Stauungsödem eines Kaninchens sich entwickelt hat, würde niemand ohne das Ergebnis von Kulturversuchen für den gleichen Organismus

---

1) Ebenso auch von der Menge desselben. In 1 ccm Serum z. B. treten kapselfreie Formen viel früher auf als in 5 ccm.

halten; die Uebergänge zwischen beiden läßt erst eine Untersuchung, wie sie im folgenden ausgeführt wurde, auffinden.

Die Frage, was man für einen Zustand des Bacillus in seiner kapseltragenden, tierischen Form vor sich hat, lassen die angestellten Versuche noch in keiner Weise entscheiden, wenngleich sich immer mehr die Vermutung aufdrängte, darin einen Krankheitszustand, jedenfalls einen abnormen Zustand des Bacillus zu erblicken, den er, sobald es nur möglich ist, gegen den normalen, kapselfreien seines saprophytischen Lebens auszutauschen versucht. Darüber kann an dieser Stelle noch nicht gesprochen werden und nur so viel sei bemerkt, daß das keinen Widerspruch gegen die so offenkundig für die Infektion nützlichen physiologischen Zustandsänderungen bedeutet, welche den tierischen Bacillen zukommen. Ob diese übrigens mit der Kapselbildung ursächlich zusammenhängen, ist nach den bisherigen Versuchsergebnissen durchaus nicht sicher. Es ist viel wahrscheinlicher, daß die Kapselbildung nur eine Begleiterscheinung eines besonderen „tierischen" Zustandes der Bacillen ist, aber nicht an sich die Ursache der Widerstandsfähigkeit der Bacillen gegen Säftewirkung und Phagocyten.

Es hat sich wenigstens mehrfach zeigen lassen, daß Bacillen aus den Organen (Milz und Leber) von tödlich infizierten Kaninchen, die zwar noch durch ihre Dicke und Kürze als Uebergangsformen zu erkennen waren, aber keine Kapsel mehr hatten, in der Meerschweinchenbauchhöhle sich genau so verhielten wie typisch kapseltragende. Solche verschwinden bekanntlich nicht wie die gewöhnlichen Kulturbacillen aus der Bauchhöhle, um erst nach einiger Zeit in kapseltragendem Zustande wieder aufzutreten, sondern vermehren sich lokal sofort. Bacillen aus der Milz eines subkutan mit 9200 Bouillonbakterien geimpften, nach ca. 40 Stunden gestorbenen Kaninchens, die keine Kapseln aufwiesen, wurden in geringer Menge in die Bauchhöhle eines 520 g schweren Meerschweinchens eingespritzt. Schon nach 3/4 Stunden war deutliche Vermehrung eingetreten, wobei die Mehrzahl der Bacillen vollständig kapselfrei geblieben war. Erst nach dieser Zeit bildeten sich Kapseln, die dann alle Bacillen, die nach 4 1/2 Stunden schon in enormer Menge vorhanden waren, umkleideten. Das Tier starb nach weniger als 19 Stunden. Es hatte etwas subkutanes Oedem mit sehr vielen kurzen dicken Bacillen und mäßig entwickelter Kapsel. Im Peritoneum fanden sich ca. 4 ccm fadenziehenden Exsudates, das eigentlich nur ein Brei aus mittellangen Milzbrandfäden war, deren Kapsel sich weit weniger entwickelt zeigte, als während des Lebens des Tieres. Polynukleäre Leukocyten waren in mäßiger Zahl vorhanden und fast jeder enthielt einen bis mehrere dünne, kapselfreie Kulturbacillen, die sich sonst im ganzen Exsudate nicht fanden. In beiden Pleuren waren zusammen ca. 5 ccm hellen, sehr zellarmen Exsudates angesammelt, deren Bacillen wie die im Oedem aussahen. In der Milz und der Leber fanden sich fast ausschließlich kapselfreie Bacillen, die aber dicker als gewöhnlich waren.

Wie dem auch sei, jedenfalls ist das Vorhandensein der Kapsel ein sicheres Kennzeichen des besonderen Zustandes, den die Bacillen im Tierkörper annehmen und ihr Auftreten gestattet eine Beurteilung der Wirkungen des Tierkörpers, welche diesen Zustand hervorbringen. Da er auch außerhalb des Organismus im Serum auftritt, so muß dieses den wirksamen Reiz enthalten, und die Literaturübersicht läßt erkennen, daß die Autoren, die sich mit dem Gegenstande befaßt haben, in der Kapselbildung eine zweckmäßige Abwehrreaktion des Bacillus auf die bakteriolytischen Wirkungen des Blutes, vielleicht auch auf die phagocytäre der Leukocyten erblicken.

Nun kann es dem, der mit dem Verhalten der Blutbakterizidie bei Milzbrand nur einigermaßen vertraut ist, nicht zweifelhaft sein, daß eine gewöhnliche Serumbakterizidie, die sich etwa in den Zahlen eines Plattenversuches ausdrücken läßt, hier keine Rolle spielen kann. Aber deswegen kann doch von den Komponenten der Bakteriolyse, Immunkörper und Komplement eine Wirkung auf Bacillen ausgehen, die sich

diesmal eben nicht in der Vernichtung von Keimen, sondern in einem eigenartigen Reize äußert, der zur Kapselbildung führt. Man ist ja in den serologischen Studien längst nicht mehr so peinlich wie zu Beginn derselben und scheut sich z. B. nicht, Ambozeptoren auch für Präzipitationsvorgänge u. dergl. anzunehmen, wenn ein rätselhaftes Phänomen durch die herrschende Theorie erklärt werden soll, auch wenn für deren Existenz kein anderer Anhaltspunkt zu finden ist, als eben das zu erklärende Phänomen.

Die Annahme, daß immunkörperartige Stoffe, die sich auf verschiedene Weise ja leicht im Serum verschiedener Tiere erweisen lassen, mit der Kapselbildung in einem Zusammenhange stehen müßten, war die Veranlassung dieser Studien und sie haftete so fest, daß es sehr vieler immer wiederholter Versuche bedurfte, ehe die schon aus den ersten Experimenten hervorgehende Tatsache anerkannt wurde, daß die Kapselbildung der Milzbrandbacillen außerhalb des Tierkörpers zwar an die Wirkung des Serums gebunden ist, daß für diese aber weder Immunkörper noch Komplement eine nachweisbare Rolle spielen.

Zunächst sei nur einiger seltener Befunde gedacht; es kam bei der Untersuchung von ca. 40 Kaninchenseren zweimal vor, daß das Serum keine oder nur eine sehr geringe kapselerzeugende Wirkung hatte.

Eines dieser Sera, das ganz frisch zu einem größeren, wegen der mangelnden Kapselbildung resultatlos verlaufenen Versuche verwendet wurde, wurde genau untersucht. Es ergab auch in konzentriertem Zustande keine Bildung von Kapseln und die Bacillen wuchsen darin kaum anders als in Bouillon. Dennoch tötete das Serum, konzentriert und im Verhältnisse 1:3 und 1:5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, 2900 Milzbrandbacillen bis auf wenige (0, 4, 3) Keime innerhalb 4 Stunden ab. Da das Serum rot war, wurde untersucht, ob nicht gelöstes Hämoglobin die Bildung von Kapseln verhindere. Der Erfolg war negativ, wobei nebenbei bemerkt sein mag, daß auch Zusatz von Traubenzucker bis zu 1 und 2 Proz. die Kapselbildung durch Serum nicht aufhob, während die Bakteriolyse dabei erfahrungsgemäß aufhört.

Solche Sera sind Ausnahmen, wahrscheinlich nur recht seltene Ausnahmen, aber sie weisen doch deutlich auf die vollkommene Unabhängigkeit der Kapselbildung sowohl vom Immunkörper als vom Komplement des Serums hin, die beide angreifen konnten, soweit sich das Ehrlichsche Schema der Bakteriolyse auf die Wirkung des Serums für Milzbrandbacillen übertragen läßt.

Es mußte nun zunächst von großem Interesse sein, festzustellen, unter welchen Umständen und Bedingungen die kapselerzeugende Eigenschaft einer tierischen Flüssigkeit verschwindet. Mit großer Leichtigkeit ließ sich ermitteln, daß ein hitzebeständiger Anteil, ein Komplement an dieser Wirkung des Serums nicht beteiligt ist.

A. Kaninchenserum wird teils frisch und aktiv, teils nach $^1/_2$ Stunden Erhitzung auf 56 und 66° reichlich mit dem Satze einer 12 Stunden alten Bouillonkultur geimpft und nach 3 Stunden Aufenthalte bei 37° mikroskopisch untersucht. Das Wachstum im aktiven Serum war nur spärlich, viel reichlicher nach Erwärmung auf 56 und 66°. Im aktiven und auf 56° erhitzten Serum fanden sich ausnahmslos Kapseln vor. in dem auf 66° erwärmten hatte ein großer Teil typische Kapseln gebildet, bei einem anderen Teil fehlten diese, die Bacillenfäden waren aber dick und trugen sonst den tierischen Charakter.

B. Kaninchenserum, teils aktiv, teils nach $^1/_2$ Stunde Erhitzung auf 60 und 68—70° lieferte bei Einhaltung der angegebenen Versuchsanordnung ausschließlich kapseltragende Bacillen. Dabei war das Wachstum im aktiven Serum sehr spärlich, besser in den auf 66°, außerordentlich üppig in dem auf 77° erhitzten Serum.

C. Kaninchenserum, teils aktiv, teils nach $^1/_2$ Stunde Erhitzung auf 58 und 66—68°. Die beiden ersten Proben lieferten reichliches Wachstum von ausschließlich kapseltragenden Bacillen. In der auf 68° erhitzten Probe war nur ein kleiner Teil der herangewachsenen Bacillen mit einer Kapsel versehen, der Rest näherte sich mehr oder

weniger dem Zustande von Kulturbacillen und konnte nicht mehr als rein tierisch bezeichnet werden.

D. und E. Pferde- und Rinderserum, teils aktiv und frisch, teils ½ Stunde auf 56 und 66° erwärmt, lieferte bei reichlichem Wachstum nur kapseltragende Bacillen.

F. Rinderserum, teils aktiv, teils nach ½ Stunde Erhitzung auf 58 und 68—70°, lieferte überall reichliche Kulturen kapseltragender Bakterien. Im erhitzten Serum war die Kapselbildung nicht nur nicht schwächer, sondern entschieden stärker als im aktiven, und Fäden mit Kapseln, welche an Breite den Bacillendurchmesser weit übertrafen, waren häufig.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß das Komplement im gewöhnlichen Wortsinne am Zustandekommen der Kapsel nicht beteiligt ist. Kein einziges der untersuchten Sera wies nach einer Erhitzung auf 56—60° Wachstum von Kulturbacillen auf. Ebenso verhielten sich Rinder- und Pferdeserum bis zu Temperaturen von 70°. Ein Teil der Kaninchensera zeigte das gleiche Verhalten, ein anderer ließ bei einer Hitze, die sich 70° näherte, eine deutliche Abnahme der kapselerzeugenden Wirkung erkennen. Es waren das immer solche Sera, die nach dieser Erwärmung eine sinnfällige Veränderung, Trübung mindestens im auffallenden Lichte erlitten hatten, und es liegt sehr nahe, die bereits erfolgte Denaturierung des Serumeiweißes als Ursache der verminderten Wirkung auf Milzbrandbacillen anzusehen.

Viel auffälliger war es, als sich herausstellte, daß man auch durch Wegnahme des Immunkörpers infolge Einwirkung abgetöteten Kulturen, die Kapselbildung nicht unterdrücken, bestenfalls nur etwas vermindern kann. Das widersprach den Anschauungen, von denen die Arbeit ausgegangen war, zu sehr, daß immer neue Versuche angestellt und modifiziert wurden.

A. Frisches Kaninchenserum wird mit bei 100° abgetöteter Aufschwemmung von Milzbrandbacillen (üppige Agarkultur in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung in folgenden Proben behandelt:

Serum	I. 1 ccm Serum	+ 0,1 ccm Milzbrandkultur	+ 0,4 ccm NaCl-Lösung
„	II. 1 „ „	+ 0,25 „ „	+ 0,25 „ „
„	III. 1 „ „	+ 0,5 „ „	+ θ „ „
„	IV. 1 „ „	+ θ „ „	+ 0,5 „ „

Nach 1 Stunde Aufenthalt der Proben bei 37° wurden dieselben gründlich zentrifugiert und die klaren Flüssigkeiten zur Hälfte reichlich (wegen Beobachtung der Kapselbildung), zur Hälfte nur mäßig (932 Bacillen zur Konstatierung der Bakteriolyse) mit Bacillen aus dem Satze einer Bouillonkultur besät. Das Ergebnis war, daß überall kapseltragende Bacillen entstanden und ein irgend beachtenswerter Unterschied zwischen behandeltem und nichtbehandeltem Serum nicht auftrat, während die Bakteriolyse im Serum IV von 632 in Serum I—III 30000—∞ Kolonieen aufgehen ließ.

B. Versuch mit Kaninchenserum. 4 stark gewachsene, aber noch junge (12-stündigem) Agarkulturen werden in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung 1 Stunde auf 60—65° erhitzt. Dann wird die eine Hälfte dieser Aufschwemmung zentrifugiert (Extrakt) und dem Serum zugesetzt. Die andere Hälfte wird, so wie sie ist, mit Serum vermischt, worauf die Proben nach 1 Stunde Aufenthalt bei 37° zentrifugiert werden.

Es ergeben sich:

Serum	I. 0,5 ccm Serum	+ 0,25 ccm Milzbrandaufschwemmung	+ 0,25 ccm NaCl-Lösung
„	II. 0,5 „ „	+ 0,5 „ „	+ θ „ „
„	III. 0,5 „ „	+ θ „ „	+ 0,5 „ „
„	IV. 0,5 „ „	+ 0,25 „ Milzbrandextrakt	+ 0,25 „ „
„	V. 0,5 „ „	+ 0,5 „ „	+ θ „ „
„	VI. 0,5 „ „	+ θ „ „	+ 0,5 „ „

In den Proben I und II entwickelte sich ein üppiges, in III ein spärliches Wachstum fast durchaus typisch kapseltragender Bacillen, ebenso in der Probe IV—VI, wo aber eine viel dürftigere Entwickelung einsetzte.

C. Kaninchenserum wird mit einer Aufschwemmung von einer Agarkultur in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung gemischt. In einem Teile der Probe sind die Bakterien lebendig, in anderen wurden sie 1 Stunde auf 65° erhitzt. Die Mischungen von Serum mit Bacillen standen ½ Stunde bei 42°, wurden dann gründlich zentrifugiert und mit Bouillonbacillen besät. Es ergaben sich die Proben:

I.	0,25 ccm Serum	+ 0,2 ccm NaCl-Lösung	+ 0,05 ccm Aufschwemmung	lebender Bacillen
II.	0,25 „ „	+ 0,12 „ „	+ 0,12 „ „	„ „
III.	0,25 „ „	+ θ „ „	+ 0,25 „ „	„ „
IV.	0,25 „ „	+ 0,2 „ „	+ 0,05 „ „	toter „
V.	0,25 „ „	+ 0,12 „ „	+ 0,12 „ „	„ „
VI.	0,25 „ „	+ θ „ „	+ 0,25 „ „	„ „
VII.	0,25 „ „	+ 0,25 „ „	+ θ „ „	„ „

Innerhalb 4 Stunden wuchsen in I und II in großer Mehrzahl typische kapseltragende Bacillen, neben viel weniger Exemplaren, die zwar keine deutliche Kapsel mehr trugen, aber als Uebergangsformen bezeichnet werden mußten. In III war dieses Verhältnis umgekehrt. Die Proben IV—VII hatten zweifellos nichts von ihrer kapselerregenden Wirkung eingebüßt.

D. Eine junge Agarkultur von Milzbrand wird in 1 ccm Kaninchenserum aufgeschwemmt und 0,05, 0,1 und 0,25 ccm davon wird mit 0,95, 0,9 und 0,75 ccm reinem Kaninchenserum vermischt. Nach 1 Stunde Aufenthalt bei 43—45° werden alle Proben sorgfältig zentrifugiert und mit Bouillonkultur besät. Nach 4-stündigem Aufenthalte bei 37° war reichliches Wachstum von kapseltragenden Bacillen eingetreten, welche sich von denen, die viel spärlicher in reinem, sonst ebenso bei 43—45° gehaltenem Serum gewachsen waren, nicht merklich unterschieden.

E. Die durch Zentrifugieren von Leukocyten befreite Exsudatflüssigkeit eines Aleuronatkaninchens wird mit 1, 2 und 3 Oesen Agarkultur für je 1 ccm versetzt und 1 Stunde bei 45° gehalten. Die danach abzentrifugierten Flüssigkeiten hatten ihre sehr starke bakterizide Wirkung verloren, ergaben aber ebenso wie eine unbehandelte Kontrollprobe ausschließlich das Wachstum kapseltragender Bacillen.

F. In 1 ccm Kaninchenserum wurde eine Agarkultur von Milzbrand aufgeschwemmt und davon 0,1, 0,25 und 0,5 ccm mit 0,9, 0,75 und 0,5 ccm reinem Kaninchenserum vermischt. Nach 1 Stunde Aufenthalt bei 45° wurden in die zentrifugierten Proben Milzbrand eingesät, der nach 4 Stunden reichliches Wachstum fast ausschließlich kapseltragender Bacillen ergab, die sich von denen einer unbehandelten Kontrollprobe nicht merklich unterschieden. Die Bakteriolyse des Serums war vollständig geschwunden.

Die Versuche verliefen so eindeutig, daß die Vorstellung, es werde die Kapselbildung durch die Immunkörper des Serums hervorgerufen, endgültig fallen gelassen werden mußte. Auch dann, wenn lebende Bacillen, denen der Aufenthalt bei 45° noch nicht schadet, in großer Menge auf Serum eingewirkt hatten, trat doch noch regelmäßig Kapselbildung ein. Es trat zwar bisweilen eine gewisse Verminderung derselben auf, namentlich dann, wenn das Serum bei einer relativ niedrigen Temperatur (42°) mit Bakterien behandelt wurde, aber das erklärt sich aus einer anderen Wirkung, welche lebende und wachsende Milzbrandbacillen ausüben. Läßt man nämlich solche selbst im Serum heranwachsen, so vermag dasselbe dann keine Kapselbildung mehr hervorzurufen.

So gelingt es sehr leicht, Serum unwirksam zu machen, in dem man größere Bakterienmengen aufschwemmt, wenn man dasselbe nur wenige Stunden bei 37° hält. Noch überzeugender sind Versuche, bei denen man gerade nur so viel Milzbrandbacillen in das Serum bringt, daß die Bakteriolyse überwunden ist und reichliches Wachstum im Brutschrank eintritt. Werden dann die gewachsenen Bacillen sorgfältig abzentrifugiert, so ist die Bakteriolyse des Serums, gleichzeitig aber auch die kapselbildende Fähigkeit verloren gegangen, und solches Serum erzeugt entweder nur noch Kulturbacillen oder doch Uebergänge von solchen zu den tierischen.

A. 1 cm Merrschweinchenserum reichlich mit Milzbrandagarkultur (ca. 1/40 Oese) geimpft und mit einer ungeimpften Kontrolle bei 37° gehalten. Nach ca. 16 Stunden wurden die Bacillen, die bereits in großer Menge kapselfrei waren, abzentrifugiert. Die klare Flüssigkeit ergab bei neuerlicher Einsaat von Bouillonbacillen nur kapselfreie, die Kontrolle typisch kapselführende Bacillen.

B. Kaninchenserum wird mit Milzbrand besät und ca. 14 Stunden im Brutschrank gehalten. Ebenso eine sterile Kontrolle, von welcher (nach 15 Stunden Aufenthalt bei 37°) ein Teil = 1 ccm genommen und mit ca. 1 Agarkultur, also viel mehr Bacillen als im Serum gewachsen sein konnten, versetzt und 1 Stunde bei 44—46° gehalten wird. Nach gründlichem Zentrifugieren ergab das erste Serum ausschließlich kapselfreie Kulturbacillen, die Bakterien der anderen beiden Proben zeigten nur tierische Formen. Ueberdies waren die meisten der auf p. 494 u. 495 unter A—F angeführten Absorptionsversuche gleichzeitig mit einer Probe desselben Serums angestellt worden, in den Milz-



brandbacillen über Nacht gewachsen und dann abzentrifugiert waren. Sie lieferten ohne Ausnahme nur Kulturbacillen.

Es vermögen also die Milzbrandbacillen sehr wohl die kapselerzeugende Wirkung eines Serums aufzuheben, aber sie müssen dazu in demselben erst wachsen können: die bloße Anwesenheit von lebender und toter Bacillensubstanz genügt dazu nicht, sondern eine vitale Funktion der Bacillen beseitigt erst diese Wirkung der tierischen Flüssigkeit. Es ist möglich, daß es sich dabei um eine Sekretion seitens der Bakterien handelt, welche der Wirkung des Serums entgegenarbeitet, oder daß erst die auf den Reiz des Serums hin vital gebildete Kapselsubstanz jetzt das Serum paralysiert: für beide Annahmen lassen sich aus den darüber angestellten Versuchen Stützpunkte anführen und beide stehen übrigens einander durchaus nicht gegensätzlich gegenüber. Was darüber ermittelt wurde, wird in einer späteren Arbeit im Zusammenhange mitgeteilt werden. Jedenfalls vermag ein im Serum wachsender Bacillus auf dasselbe eine Wirkung auszuüben, welche der bloßen Bacillensubstanz, die bei rein saprophytischer Lebensweise auf künstlichen Nährböden gebildet wird, nicht zukommt. Wenn daran überhaupt eine Substanz schuld ist, so muß es eine vital, erst auf den Reiz des Serums hin gebildete sein.

Diese Beobachtungen in vitro stehen mit den Befunden am Tierkörper in guter Uebereinstimmung. Denn das Oedem, der Organsaft und das Blut von Kaninchen, die einer Mitzbrandseptikämie erlegen sind, erzeugen keine Kapseln mehr. Es macht oft einen überraschenden Eindruck, zu sehen, wie Flüssigkeiten, die im Tierkörper kapseltragende Bacillen ergeben haben, nach Entfernung derselben in vitro nur ausgesprochene Kulturgenerationen heranwachsen lassen. Wie aber oben bereits bemerkt wurde, ist auch im infizierten Tiere bereits sehr oft das Auftreten von Kulturgenerationen festzustellen, Befunde, welche theoretisch für die Lösung des Infektionsproblems von größter Wichtigkeit sind[1]).

Bei diesen Ermittelungen wurde übrigens ein Unterschied aufgefunden, der vielleicht doch eine Beziehung der Immunkörper eines Serums zur kapselerzeugenden Wirkung desselben ergibt, wenn auch eine Verbindung des Immunserums mit der Bacillensubstanz nicht in Frage kommt. Während nämlich Kaninchen- und Meerschweinchenserum schon nach relativ kurzem Wachstum der Bacillen keine Kapseln an frisch eingesäten mehr hervorzubringen imstande sind, lassen sich Pferde- und Rinderserum im allgemeinen weniger leicht erschöpfen. Man muß z. B. die Bacillen nach 12 Stunden abzentrifugieren und diese Prozedur noch einmal, selbst zweimal wiederholen, ehe keine neuen Kapseln mehr gebildet werden. Rinder- und Pferdeserum sind aber an Immunkörpern (von spezifischen, nur auf Milzbrandbrandbacillus eingerichteten Immunkörpern kann natürlich kaum die Rede sein) reicher als Kaninchenserum. Genaue quantitative Messungen stehen noch aus.

Ob ein Serum seine kapselerregende Fähigkeit bereits durch das Wachstum von Bacillen verloren hat, kann man in der Regel bereits durch die bloße mikroskopische Beobachtung erkennen. Treten in einer solchen Serumkultur neben kapseltragenden kapselfreie in größerer Zahl auf[2]), so bilden auch frisch eingesäte keine Kapsel mehr. Bei Pferde-

1) Vgl. den Hinweis darauf in der Prager med. Wochenschr. 1908.

2) Einzelne kapselfreie Bacillen kommen fast in jeder Serumkultur, auch wenn sie ganz frisch ist, vor. Sie beirren die Beurteilung der Serumwirkung aber nicht, sobald man nur einige Uebung hat.

und Rinderserum kann es 2, auch 3 Tage dauern, ehe die Mehrzahl der Bacillen kapselfrei wird. Daß ein in seiner kapselerzeugenden Wirkung erschöpftes Serum ein schlechter Nährboden wäre, kann man nach der mikroskopischen Untersuchung nicht sagen. Die Bacillen vermehren sich sehr stark.

Das Ergebnis dieses Teiles der Untersuchungen war somit, daß die Körpersäfte[1]) aller verwendeten Tiere die Fähigkeit haben, eine Zustandsänderung von Milzbrandbacillen herbeizuführen, die morphologisch leicht kenntlich ist und zur Ausbildung einer oft sehr mächtigen Kapsel führt, die wahrscheinlich den extremsten Grad dieser Zustandsveränderungen bedeutet. Ausnahmen davon können beim normalen Tiere vorkommen, sind aber jedenfalls selten. Die etwa vorhandenen bakteriziden Fähigkeiten der Körpersäfte sind dafür bedeutungslos, auch der Gehalt an Immunkörpern, die sich mit der Bacillensubstanz verbinden würden, kann nicht als Ursache dieser Säftewirkung angesehen werden, wenngleich möglicherweise ein andersartiger Zusammenhang zwischen dem Immunkörpergehalt und der animalisierenden Wirkung der Säfte, voran des Serums, besteht. Mit diesem Ausdrucke möge diese von den bisher bekannten Serumwirkungen unterscheidbare Eigenschaft weiterhin der Kürze halber bezeichnet werden, da es nachgerade geschmacklos wird, neue „Serumstoffe“ für jede wichtige oder unwichtige Wirkung der Körpersäfte anzunehmen.

Die animalisierende Eigenschaft, auf welche die Bacillensubstanz der saprophytisch gezüchteten Bakterien ohne Einfluß ist, wird durch vitale Tätigkeit der im Serum wachsenden Milzbrandbacillen zerstört, wobei es vorläufig unentschieden bleibt, ob es sich um eine direkte Zerstörung handelt oder um eine indirekte, etwa so, daß die unter dem Einflusse der animalisierten Serumwirkung gebildete Bakteriensubstanz (die Substanz der Kapsel?) jetzt dieselbe zum Verschwinden bringt[2]). Es sei nebenbei bemerkt, daß jedenfalls dieser vitalen Aufhebung der animalisierenden Eigenschaft keine besondere Spezifität zukommt. Um sich davon zu überzeugen, braucht man nur in einem frischen Kaninchenserum Typhusbacillen, Choleravibrionen oder Staphylokokken zum üppigen Wachstum zu bringen; sät man jetzt Milzbrandbacillen ein, so wachsen sie kapselfrei und dabei auch meist recht kümmerlich[3]). Wie in vitro, so findet auch in vivo beim Kaninchen eine Erschöpfung der animalisierenden Serumwirkung statt, indem die Körperflüssigkeiten tödlich infizierter Tiere die Zustandsänderung der Bacillen nicht mehr herbeiführen.

Der zweite Teil dieser Untersuchungen hatte die Feststellung der Verbreitung animalisierender Eigenschaften im Kaninchenorganismus zum Gegenstande. Die Frage lautete, ob nur die Körpersäfte die eigenartige Zustandsänderung der Bacillen hervorbringen oder ob auch Körperzellen die Fähigkeit haben. Von vornherein bestand Neigung, wenigstens den Leukocyten animalisierende Wirkungen zuzusprechen. Denn eine der auffälligsten Eigentümlichkeiten animalisierter Bacillen, die von

1) Stauungsödem besaß die animalisierende Eigenschaft in außerordentlich hohem Grade; sie äußerte sich, dem Aussehen der Bacillen nach, etwas anders als im Serum.

2) Diese Annahme ist nach den bisherigen Versuchen sehr unwahrscheinlich.

3) Das deutet wieder auf die lange bekannte und nicht unwichtige Tatsache hin, daß der Milzbrandbacillus für den Konkurrenzkampf um totes organisches Material mit anderen Bakterien nur sehr schlecht ausgerüstet ist.

allen Autoren erkannt und durch eigene sehr zahlreiche Versuche bestätigt wurde, besteht in deren Widerstandskraft gegen Phagocytose. Es lag nahe, die Kapselbildung u. s. f. als eine Reaktion auf die Anwesenheit und irgend eine Wirkung der Leukocyten aufzufassen, so wie man, wenn auch sicher mit Unrecht geneigt ist, dieselbe als eine Abwehr der bakteriziden Schutzkräfte des Blutes oder gar als eine Art von Selbstimmunisierung[3]) der Bacillen gegen diese anzusehen.

Aber auch hier ergab der genau angestellte Versuch ein völlig abweichendes Resultat. Isolierte, in physiologischer Kochsalzlösung oder verdünnter Bouillon aufgeschwemmte Leukocyten vermochten niemals Kapselbildung oder auch nur einen Uebergang zu derselben zu erzeugen. Daß sie dabei lebendig blieben, davon überzeugte die kräftig einsetzende Phagocytose, wobei bemerkt sei, daß in diesen Versuchen in Uebereinstimmung mit Löhlein, Gruber und Futaki[4]) Phagocytose ohne jede Anwesenheit von Körperflüssigkeit, also ohne opsonische Wirkung sehr reichlich eintrat. Auch wenn Leukocyten in verdünnter Bouillon mehrmals eingefroren und wiederaufgetaut waren, wuchsen nur Kulturbacillen, gleichgültig ob die abgetöteten Leukocyten in der Flüssigkeit belassen oder daraus entfernt wurden[5]).

A. Vollexsudat, Serum, Exsudatflüssigkeit und aus dem Exsudate isolierte, in verdünnter Bouillon aufgeschwemmte Leukocyten, sowie verdünnte Bouillon allein, erhalten eine reichliche Einsaat des Satzes einer Milzbrandbouillonkultur und werden nach 4 Stunden Wachstum bei 37° untersucht. Im Vollexsudate trat kein Wachstum ein, relativ spärliches von ausschließlich kapseltragenden Bacillen erfolgte in Serum und Exsudatflüssigkeit, die isolierten Leukocyten ließen reichliches Wachstum von dünnen kapselfreien Fäden zu, ganz ähnlich wie in der verdünnten Bouillon. Phagocytose war reichlich vorhanden, aber alle von Leukocyten aufgenommenen Bacillen wuchsen wieder zu kapselfreien Fäden aus, so daß sicher auch bei der innigsten Berührung mit den Zellen ein Reiz zur Kapselbildung nicht ausgeübt worden war.

B. und C. Analog angestellte Versuche verliefen ebenso. In beiden trat bereits die später zu beschreibende Eigentümlichkeit hervor, daß in Zellklumpen, die sich im Vollexsudat gebildet hatten, wahrscheinlich aus Phagocytosen heraus, Kulturbacillen ausgewachsen waren, während in der Flüssigkeit kapseltragende Bacillen entstanden. Doch war die Vermehrung immer eine relativ schwache.

D. Zum Versuche wurden verwendet: Serum, isolierte Leukocyten eines Meerschweinchens in verdünnter Bouillon und diese selbst. Im Serum entstanden kapseltragende, in den anderen Proben kapselfreie Bacillen in meist dünnen Fäden.

E. Serum, Exsudatflüssigkeit und isolierte gewaschene Leukocyten eines Aleuronatkaninchens. Diese sind in verdünnter Bouillon aufgeschwemmt. Die Aufschwemmung wird teils als solche, teils nach mehrmaligem Gefrierenlassen, zur Hälfte zentrifugiert, zur Hälfte unverändert verwendet. Diese Proben ergaben nur kapselfreie Kulturbacillen, während im Serum eine mäßige, in der Exsudatsflüssigkeit eine sehr ärmliche Kultur kapseltragender Bacillen entstanden war.

Sehr eigenartig verliefen Versuche, bei denen isolierte Leukocyten zu Serum zugesetzt wurden, dessen animalisierende Eigenschaften durch einen Kontrollversuch festgestellt waren. In der Regel war das Wachstum dabei ein ärmliches, wenn es nicht durch reichliche Aussaat verbessert wurde. In solchen Proben setzen sich bekanntlich die Zellen rasch ab und bilden Klumpen, die nicht leicht auseinandergehen. Wurden diese nach 3—4-stündigem Wachstum der Bacillen ausgestrichen, so ließ sich sehr oft erkennen, daß innerhalb der Zellen und wahrscheinlich aus

3) Was übrigens nur ein Wort ohne tieferen Sinn ist, mit dem man natürlich nichts erklären kann.

4) Annales de l'institut Pasteur. T. XXII. 1905. p. 648. Münch. med. Wochenschr 1907.

5) Hierüber sind allerdings nur zwei Versuche angestellt, die aber ganz gleichartig verliefen.



Phagocytosen heraus, relativ dünne, kapselfreie Fäden gewachsen waren, während in dem überstehenden Serum sich typische Kapseln gebildet hatten. Durch eine eigene Versuchsanordnung ließ sich wahrscheinlich machen, daß Leukocyten auch durch eine Art Fernwirkung die Kapselbildung im Serum aufhalten können.

Die Methode beruht in der Anwendung verdünnten Serums. Im allgemeinen kann man die Verdünnung mit peptonhaltiger physiologischer Kochsalzlösung nicht sehr weit treiben. Die einzelnen Kaninchensera verhalten sich nicht ganz gleich. Zusatz von gleichen Teilen Kochsalzlösung vertragen noch die meisten Sera, eine Verdünnung mit 4 Teilen zeigt in der Regel deutlich bereits die Abnahme der animalisierenden Serumwirkung. Derart verdünnte, aber an sich noch wirksame Sera erzeugen mit Leukocyten zusammen keine oder doch nur wenige Kapseln mehr.

A. Leukocyten und Serum eines Aleuronatkaninchens.

1) 0,5 ccm Serum: Mäßig reichliches Wachstum ausschließlich kapseltragender Bacillen.

2) 0,5 ccm Serum + Leukocyten: Wachstum reichlich. Die innerhalb der Leukocytenanhäufungen gewachsenen Fäden sind dünn und kapselfrei, die freien teils kapselhaltig, teils nicht.

3) 0,4 ccm Serum + 0,1 ccm peptonhaltiger NaCl-Lösung. Ziemlich reichliches Wachstum durchaus kapselhaltiger Bacillen. Die Kapseln sind im allgemeinen stärker entwickelt als in Probe 1.

4) Wie 3 mit Leukocyten. Sehr reiches Wachstum, wie in Probe 2, aber auch die außerhalb der Leukocytenhaufen liegenden Fäden sind der Mehrzahl nach kapselfrei.

5) 0,3 ccm Serum + 0,2 ccm NaCl pept. Sehr reichliches Wachstum mit stellenweise exzessiver Kapselbildung.

6) Wie 5 mit Leukocyten. Sehr üppig. Sowohl innerhalb wie außerhalb der Leukocytenhaufen finden sich nur dünne Kulturfäden.

7) 0,2 ccm Serum + 0,3 ccm NaCl pept. Sehr reichliche, meist noch schöne Kapseln.

8) Wie 7, mit Leukocyten. Bei reichlichem Wachstum ohne Ausnahme Kulturbacillen.

9) 0,1 ccm Serum + 0,4 ccm NaCl pept. Sehr reichliches Wachstum, das aber nur zum Teil noch zur Bildung von Kapseln geführt hat.

10) Wie 9, mit Leukocyten. Es wachsen in großer Menge nur Kulturbacillen aus. Das Gleiche ist der Fall bei der Probe, die kein Serum enthielt.

B. Serum und Leukocyten eines Aleuronatkaninchens. Die Menge der Leukocyten ist sehr groß. In der mit No. 7 bezeichneten Probe wurde die doppelte Anzahl der sonst benutzten Leukocyten mit 0,5 ccm Serum 1 Stunde bei 37° gehalten und dann zentrifugiert.

1) 0,5 ccm Serum. Mäßig reichliches Wachstum von Bacillen mit starken, an den Fadengliedern hervorquellenden Kapseln.

2) Wie 1, mit Leukocyten. Wachstum reichlich, wobei sich diesmal nur kapselfreie, aber dicke Bacillen fanden.

3) 0,3 ccm Serum + 0,2 ccm NaCl pept. Mäßiges Wachstum kapseltragender Bacillen.

4) Wie 3, mit Leukocyten. Durchaus kapsellose, meist typisch dünne Kulturbacillen. Die Phagocytose betrifft meist alte blasse Bacillenreste, während die jungen Generationen offenbar nur wenig der Phagocytose unterliegen.

5) 0,2 ccm Serum + 0,3 ccm NaCl pept. Sehr reichliches Wachstum. Die Bacillen sind dick, haben aber teilweise noch Kapseln.

6) Wie 5, mit Leukocyten. Wie in der Probe 4.

7) Mit Leukocyten behandeltes, zentrifugiertes Serum. Das Wachstum ist sehr üppig, unvergleichlich viel stärker als in No. 1. Die Bacillen sind sehr dick, haben meist Kapseln, die aber nur selten, wie in der Probe 1, vorquellen.

C. Zellen und Serum eines Aleuronatkaninchens, dessen Exsudat etwas blutig war.

1) 0,5 ccm NaCl pept. }
2) Wie 1, mit Zellen. } Nur Kulturbacillen.

3) 0,3 NaCl pept. + 4,2 ccm Serum. Sehr mäßiges Wachstum von ausschließlichen Kapselbakterien.

4) Wie 3, mit Zellen. Die in den Leukocytenhaufen liegenden Fäden sind dünne Kulturbacillen. Außerhalb findet sich hier und da die Entwickelung von Kapseln.

5) 0,1 ccm NaCl pept. + 0,3 ccm Serum. } Wie 3 und 4.
6) Wie 5, mit Zellen. }

7) 0,1 ccm NaCl pept. + 0,4 ccm Serum. Spärliches Wachstum von Kapselbacillen.

8) Wie 7, mit Leukocyten. Reichliches Wachstum dünner Kulturfäden innerhalb von Leukocytenklumpen, außerhalb derselben meist schöne Kapseln.

9) 0,5 ccm Serum. Sehr schwaches Wachstum kapseltragender Bacillen.

10) 0,5 ccm Serum mit Leukocyten. Wie Probe 8.

Wurden an Stelle von Leukocyten andere Organzellen dem Serum zugesetzt, so war die animalisierende Wirkung desselben aufgehoben und kehrte auch nach Entfernung der Zellen nicht mehr zurück.

A. Serum, Leukocyten und Organzellen eines völlig verbluteten Aleuronatkaninchens. Verwendet wurde die Milz, ein deren Größe ungefähr entsprechendes Stück Leber und das Knochenmark beider Oberschenkel. Diese Organe wurden in je 5 ccm Serum fein zerrieben, 1 Stunde bei 37° gehalten und dann teils als Aufschwemmungen, teils nach Zentrifugieren verwendet. Die reichlichen aus dem Exsudat isolierten Leukocyten wurden ebenso, aber nur mit 3 ccm Serum behandelt.

0,5 ccm Serum lieferte spärliches Wachstum durchaus kapseltragender Bacillen. Zusatz von Leukocyten ergab ein ziemlich gutes Wachstum meist aus Phagocytose auswachsender nur kapselfreier Bacillen. Milz- und Leberzellen lieferten reichliches, Knochenmark ein weniger reichliches Wachstum ganz kapselfreier, zum Teil dicker, zum Teil dünner Fäden. Ausnahmslos kapselfreie Bacillen lieferten dieselben Zellen in gleichen Teilen Serum und verdünnter Bouillon aufgeschwemmt, während reines Serum nur Bacillen ergab. Von den Proben, aus denen die Zellen durch Zentrifugieren entfernt waren, ergab das mit Leukocyten in Berührung gewesene reine Serum ausschließlich kapseltragende Bacillen, das verdünnte solche und Uebergangsformen. Die übrigen Proben ergaben sehr wenig Kapseln, aber sehr viele Kulturbacillen, mehr Uebergangsformen, als wenn die Zellen nicht entfernt waren.

B. Aleuronatkaninchen. Milz, Leber und Knochenmark werden analog wie im Versuche A in je 3,5 ccm Serum verrieben, 1 Stunde bei 37° gehalten und dann zentrifugiert. Ebenso wird eine große Menge isolierter Leukocyten mit nur 0,5 ccm Serum behandelt und zentrifugiert.

Das Serum allein, sowie das mit Leukocyten behandelte ergab nur tierische Bacillen, wobei das unvergleichlich üppigere Wachstum nach der Leukocytenbehandlung auffiel. Die übrigen Proben lieferten kapselfreie Bacillen, höchstens Uebergangsformen.

Wurde im Verhältnisse 0,4 behandeltes Serum 0,1 oder 0,45, 0,05 ccm frisches Serum zugesetzt, so war zwar die Zahl der Uebergangsformen etwas größer, aber eine „Ergänzung“ der kapselbildenden Wirkung konnte um so weniger konstatiert werden, als 0,1 ccm Serum in 0,01 ccm verdünnter Bouillon ebenfalls schon teilweise Uebergangsformen und sogar hier und da Kapselbildung hervorrief.

C. Die Behandlung des Serums mit Organzellen erfolgte analog wie in den vorigen Versuchen. Dem Tier war etwa 7 Stunden vor der Verblutung ein Gummischlauch um den einen Oberschenkel gelegt worden. Das ausfließende Oedem wurde zu Versuchen ebenfalls verwendet.

1) 0,4 ccm Serum + 0,1 ccm Milzserum. Sehr üppiges Wachstum. Bacillen der großen Mehrzahl nach dick, aber ohne Kapsel, daneben Kulturfäden.

2) 0,4 ccm Serum + 0,1 ccm Leberserum. Sehr üppig. Zum größten Teil typische Kulturbacillen, daneben dicke Formen mit und ohne Kapsel.

3) 0,4 ccm Serum + 0,1 ccm Knochenmarkserum. Sehr üppig. Bacillen überall dick, meist nur kurze, oft gewundene Fäden, Kapsel fast immer, aber nur schwach entwickelt, jedenfalls die größte Mehrzahl der Bacillen als tierisch zu bezeichnen.

4) 0,4 ccm Serum + 0,1 ccm NaCl pept. Mäßiges Wachstum, durchaus kapselhaltige Bacillen mit vorquellender Kapsel.

5) 0,3 ccm Serum + 0,2 ccm Milzserum. Sehr üppig. Die größte Mehrzahl der Bacillen sind zweifellos Kulturbacillen, daneben einige Uebergangsformen und sehr selten eine Kapsel.

6) 0,3 ccm Serum + 0,2 ccm Leberserum. Enorm starkes Wachstum. Wie in No. 5.

7) 0,3 ccm Serum + 0,2 ccm Knochenmarkserum. Enorm üppig. Die Mehrzahl der Bacillen sind zweifellos Kulturbacillen, doch findet sich eine beträchtliche Zahl von Uebergangsformen, auch noch Kapseln.

8) 0,3 ccm Serum + 0,2 ccm NaCl pept. Ziemlich reichliches Wachstum ausschließlich Kapselbacillen.

Die Proben 9—11, wo das Verhältnis des reinen zum behandelten Serum 0,2 : 0,3 war, lieferten äußerst üppig wachsende Kulturbacillen. Wurde zu 0,2 ccm Serum

0,3 ccm verdünnte Bouillon zugesetzt (No. 10), so traten neben Kapselbacillen ebenfalls bereits Uebergangs- und Kulturformen auf.

Die Probe 11 mit reinem Serum ergab dürftiges Wachstum von Kapselbacillen, die behandelten Sera (12, 13, 14) und verdünnte Bouillon sehr üppiges Wachstum von Kulturbacillen.

15) 0,5 ccm Stauungsödem. 16) 0,4 ccm Stauungsödem + 0,1 ccm NaCl pept. 17) 0,3 ccm Stauungsödem + 0,2 ccm NaCl pept. 18) 0,2 ccm Stauungsödem + 0,3 ccm NaCl pept.	Sehr reichliches Wachstum von Bacillen, die oft an das Aussehen der gewöhnlich im subkutanen Kaninchenödem gefundenen erinnern. Kulturbacillen fehlen ganz.

Das eigenartige Verhalten der Organzellen verdient sicher alle Beachtung. Sie besitzen in sehr hohem Grade die Fähigkeit, die animalisierende Wirkung des Kaninchenserums aufzuheben, und dieses Verhalten erinnert ganz auffallend an die von früher her bekannte Eigenschaft der meisten Organzellen [1]), die bakteriolytischen Fähigkeiten des Kaninchenserums aufzuheben. Genauere Versuche zeigten damals, daß Organe in der Regel nur die Immunkörper der Serums unwirksam machen, während tote Bacillen sowohl den Immunkörper als das Komplement beseitigen [2]). Von beiden ist die animalisierende Eigenschaft des Serums unabhängig.

Inwiefern die Ergebnisse dieser interessanten Reagenzglasversuche zur Erklärung des Infektionsproblems mit Milzbrand verwertet werden können, läßt sich noch nicht sicher angeben und es erscheint deshalb notwendig, erst noch weitere eingehendere Versuche anzustellen, da die Erlangung eines besonderen, unter anderem durch die Kapselbildung charakterisierten Zustandes ziemlich zweifellos mit der Aggressivität und Aggressinbildung zusammenhängt [3]) und von dieser aus erst die Infektion verständlicher gemacht werden kann. Es werden bald weitere Mitteilungen folgen.

Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.

III. Gestaltsveränderung des Typhusbacillus in Serumkulturen.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Dr. **Kyuzo Tsuda**, Tokio.

Die Veränderungen morphologischer und physiologischer Natur, welche Bakterien während der Infektion im Tierkörper annehmen, haben in neuerer Zeit wieder mehr Aufmerksamkeit erregt. Besonders der Milzbrandbacillus war das Objekt diesbezüglicher Studien, da man seine physiologische Zustandsänderung mit den Besonderheiten der Infektion in Zusammenhang brachte [4]). Aber auch bei anderen Bakterien sind morphologische Veränderungen infizierender Bacillen erkannt worden, so die Kapselbildung bei Streptokokken (Bordet) und bei Hühnercholera-

1) Bail und Pettersson, Dieses Centralbl. Bd. XXXIV. 1903. No. 5 u. 6.
2) Bail, Dieses Centralbl. Bd. XXXIII. 1903. No. 5.
3) Auf diesen Zusammenhang, den Eisenberg (dieses Centralbl. Bd. XLV. 1907.) betonte, wurde von unserer Seite schon sehr frühzeitig hingewiesen. (Bail, Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 43. Weil, Dieses Centralbl. Bd. XLIII. 1907. p. 201.)
4) Bail, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVI. 1908.

bacillen (Zilberberg und Zeliony). Bail[1]), Bail und Rubritius[2]) haben darauf aufmerksam gemacht, daß auch Typhusbacillen im Tierkörper eine morphologische Veränderung erfahren, nämlich dicker und plumper werden, und daß diese tierischen Bacillen gegen Agglutination und Bakteriolyse weit resistenter als die Kulturbacillen sind. Ich habe es unternommen, diese morphologische Veränderung der Typhusbacillen in vitro genauer zu untersuchen.

Zu den Versuchen wurden 3 Stämme von Typhusbacillen benutzt, und zwar immer als 15—20-stündige Agarkulturen, in welchen die Bacillen als relativ dünne Stäbchen erscheinen. Der Versuch wurde folgendermaßen ausgeführt: 1 ccm Serum wurde mit einer kleinen Oese der Bacillen beimpft und im Brutschrank belassen, bis man nach einigen Stunden das Wachstum der Bacillen sehen konnte. Von dieser Serumkultur wurden Trockenpräparate nach 3—5-stündigem Wachstum der Bacillen, manchmal auch am nächsten Morgen angefertigt und mit Karbolmethylenblau gefärbt.

In den Präparaten aus Rinder- und Pferdeserum sieht man neben vielen blaßgefärbten Bacillen Granulabildung mit stark agglutinierten Stäbchen, ferner aber auch viele Bacillen, welche in ihrer Form auffallend verschieden von gewöhnlichen Kulturbacillen erscheinen. Sie sind nämlich bedeutend dicker, plumper und etwas kürzer als diese und mit Methylenblau gut färbbar. Eine Kapselbildung konnten wir niemals nachweisen. Die Bacillen wachsen besser im Kaninchen- als im Meerschweinchenserum, in welchem die Agglutination und die Bakteriolyse weit schwächer vorhanden sind. Diese im Serum gewachsenen Typhusbacillen sind an ihrer typischen Form ganz leicht von den Kulturbacillen zu unterscheiden, wenn auch ein spezifisches Gebilde, wie die Kapselbildung bei Milzbrandbacillen, hier vermißt wird. Sie sind aber den aus tödlich infizierten Tieren stammenden Bacillen so ähnlich, daß beide, wenigstens was das morphologische Verhalten betrifft, kaum voneinander zu unterscheiden sind.

Es ist zunächst daran zu denken, ob die Verdickung der im Serum gewachsenen Typhusbacillen nicht ein Vorstadium der Bakteriolyse ist. Wenn diese Vermutung richtig wäre, konnte man auch bei getöteten Bacillen im Serum eine Formveränderung erwarten. Die Versuche beweisen gerade das Gegenteil.

Man kann diese morphologische Veränderung der lebenden Typhusbacillen für eine Folge der Serumaktivität halten und die Existenz einer besonderen Eigenschaft im Serum annehmen, welche auf die Bacillen so wirkt, daß sie den Charakter der tierischen Bacillen annehmen. Es ließ sich leicht zeigen, daß diese Eigenschaft des Serums verloren geht, sobald man Typhusbacillen im Serum wachsen läßt. 1,5 ccm Serum wurde mit 1 Oese Typhusbacillen versetzt, im Brutschrank über Nacht gehalten und nachher abzentrifugiert; dieser Abguß war nicht mehr imstande, die von neuem zugesetzten Bacillen in tierische umzuwandeln. Daß keine spezifische Beeinflussung des Serums vorliegt, wurde durch folgenden Versuch bewiesen: Je 1,5 ccm Kaninchenserum wurde mit 1 Oese Typhusbacillen, Staphylokokken und Choleravibrionen geimpft und 15 Stunden im Brutschrank belassen. Zu den abzentrifugierten Seren wurden Typhusbacillen zugesetzt und nach 5 Stunden das Wachstum derselben unter-

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LII. 1905.
2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907.



sucht. Nicht nur in dem mit Typhusbacillen behandelten Serum, sondern auch in dem mit Choleravibrionen resp. mit Staphylokokken behandelten wurden keine tierischen Typhusbacillen, sondern lauter Kulturbacillen nachgewiesen. Die Versuche mit Rinderserum sowie mit Pferdeserum zeigten dasselbe Resultat; nur im mit Choleravibrionen behandelten Rinderserum, in welchem die Vibrionen nicht gut wuchsen, wurden tierische Bacillen neben Kulturbacillen nachgewiesen, wahrscheinlich deswegen, weil die wenig gewachsenen Vibrionen die wirksame Eigenschaft des Serums nicht vollständig beseitigt hatten.

Welcher Bestandteil des Serums ist als Ursache des Tierischwerdens der Bacillen anzunehmen? Zunächst war an die bei der Bakteriolyse wirksamen Serumkomponenten, Komplement und Immunkörper, zu denken. Das erstere wurde dadurch ausgeschaltet, daß die Sera $^1/_2$ Stunde auf 58° C erhitzt wurden; in solchen Seren konnten wir jedesmal typisch tierische Bacillen wie im aktiven Serum nachweisen. Um das Komplement gänzlich zu vernichten, wurden die Sera $^1/_2$ Stunde auf 68° C erhitzt, wobei manchmal Trübung durch Gerinnung nicht zu vermeiden war. Solange die Sera ganz flüssig geblieben waren, konnten tierische Bacillen konstant reichlich darin nachgewiesen werden; in den halbgeronnenen Seren wurden dagegen lauter Kulturbacillen oder ganz spärliche tierische Bacillen neben reichlichen Kulturbacillen gefunden.

Wenn die Serumaktivität auf einer Wirkung des Immunkörpers beruhen würde, so müßte das Serum durch die Behandlung mit toten Bacillen seine Wirkung vollständig verlieren. Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch angestellt: Zwei Agarkulturen wurden in 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt, $1^1/_2$ Stunden auf 60° erhitzt; von dieser Aufschwemmung der toten Bacillen wurde in je 1 ccm des aktiven Serums verschiedene Mengen gebracht, entsprechend $^1/_{10}$, $^1/_5$ und $^1/_2$ Agarkultur. Die Eprouvetten wurden 1 Stunde bei 44° gehalten, um das weitere Wachstum der trotz der Erhitzung wahrscheinlich noch überlebenden Bacillen zu vermeiden, und dann abzentrifugiert. Diese mit toten Bacillen behandelten Abgüsse wurden mit Typhusbacillen geimpft.

Tabelle 1.

1 ccm Kaninchenserum	+ 0,05 Aufschw. der toten Bac.	+ 0,2 NaCl-Lösung	1 Std. bei 44°, dann zentrifugiert	= reichl. tier. B[…]
1 „ „	+ 0,1 „ „ „ „	+ 0,15 „		= „ „
1 „ „	+ 0,25 „ „ „ „	+ 0 „		= „ „
1 „ „	+ 0	+ 0,25 „		= „ „

Tabelle 2.

1 ccm Pferdeserum	+ 0,05 Aufschw. der toten Bac.	+ 0,2 NaCl-Lösung	1 Std. bei 44°, dann zentrifugiert	= tier. B[…]
1 „ „	+ 0,1 „ „ „ „	+ 0,15 „		= „
1 „ „	+ 0,25 „ „ „ „	+ 0 „		= „
1 „ „	+ 0	+ 0,25 „		= „

Diese Versuche wurden mit verschiedenen Seren wiederholt, und stets haben wir gleiches Resultat erhalten. Auf die zur Hemmung des Wachstums dienende Temperatur von 44° muß bei diesem Experiment streng geachtet werden, weil bei niedrigerer Temperatur einzelne Bacillen sich vermehren und auf diese Weise das Serum unwirksam machen. Man gelangt zu falschen Resultaten, da in solchen Sera dann nur wenige Bacillen tierisch werden. In gleicher Weise wurden die Versuche mit der Aufschwemmung von toten sowie von lebenden Bacillen ausgeführt.

Tabelle 3.

A = Aufschwemmung der lebenden Bac.; 2 Agarkulturen in 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt.
A = „ „ toten Bac.; gleicher Weise aufgeschwemmt und 2 Std. auf 60° C erhitzt.

Serum	Zusatz		Ergebnis
:m Rinderserum	+ 0,25 LBA + 0	1 Std. bei 44°, dann zentrifug.	= meist Kulturbac., geringe Zahl tier. Bac.
„ „	+ 0,25 TBA + 0		= meist tierische Bac.
„ „	+ 0,1 LBA + 0,15 NaCl-Lösung		= Kulturbac. und tierische Bac.
„ „	+ 0,1 TBA + 0,15 „		= tierische Bac. reichlich
„ „	+ 0,05 LBA + 0,2 „		= tierische Bac. reichlich
„ „	+ 0,05 TBA + 0,2 „		= tierische Bac.
„ „	+ 0 + 0,25 „		= tierische Bac.

Tabelle 4.

Serum	Zusatz		Ergebnis
:m Meerschweinchenserum	+ 0,25 LBA + 0	1 Std. bei 44°, dann zentrifug.	= lauter Kulturbac.
„ „	+ 0,25 TBA + 0		= reichlich tierische Bac.
„ „	+ 0,1 LBA + 0,15 NaCl-Lösung		= Kulturbac., wenig tier. Bac.
„ „	+ 0,1 TBA + 0,15 „		= reichlich tierische Bac.
„ „	+ 0,05 LBA + 0,2 „		= Kulturbac. und tier. Bac.
„ „	+ 0,05 TBA + 0,2 „		= tierische Bac.
„ „	+ 0 + 0,25 „		= tierische Bac.

Diese Serumwirkung wird somit durch Behandlung mit toten Bacillen nicht aufgehoben, und auch dann nicht, wenn man 1/2 Agarkultur auf 1 ccm Serum einwirken ließ, während lebende Bacillen doch eine gewisse Beeinflussung des Serums erkennen ließen. Aus den obigen Versuchen geht hervor, daß die beschriebene Eigenschaft des Serums, Typhusbacillen tierisch zu machen, sie zu animalisieren, weder im Komplement- noch im Immunkörpergehalt ihre Ursache hat.

Wir stellten uns die Aufgabe, zu unterscheiden, ob andere Körperflüssigkeiten dieselbe Wirkung auf Typhusbacillen ausüben wie das Serum. Das künstlich durch intraperitoneale oder intrapleurale Bouillon oder Aleuronatinjektion erzeugte Exsudat von Kaninchen sowie Meerschweinchen zeigt dieselbe Eigenschaft. Sowohl in dem zellhaltigen Exsudat, als auch in der abzentrifugierten Exsudatflüssigkeit wurden reichlich tierische Bacillen nachgewiesen, aber nicht in der mit zentrifugierten Leukocyten versetzten peptonhaltigen NaCl-Lösung. Man konnte sogar feststellen, daß bei Anwesenheit der Leukocyten im Serum die Typhusbacillen nur in geringer Anzahl tierische Eigenschaften aufweisen.

Tabelle 5.

Das Serum war ein Meerschweinchenserum; das aus demselben Tiere durch vorherige intraperitoneale Injektion von Bouillon erhaltene Exsudat wurde zentrifugiert, die aus dem Sediment und Spülwasser der Bauchhöhle gesammelten Leukocyten wurden einigemal gewaschen.

Versuch	Ergebnis
0,5 ccm Exsudatflüssigkeit	= tierische Bac. reichlich
0,5 „ peptonhaltige NaCl-Lösung + Leukocyten	= lauter Kulturbac.
0,5 „ Meerschweinchenserum	= tierische Bac. reichlich
0,5 „ „ + Leukocyten	= meist Kulturbac., weniger tier. Bac.
0,25 „ „ + 0,25 pept. NaCl	= tierische Bac. ziemlich reichlich
0,25 „ „ + 0,25 „ „ + Leukocyten	= fast alles Kulturbac.
0,1 „ „ + 0,4 „ „	= Kulturbac.
0,1 „ „ + 0,4 „ „ + Leukocyten	= Kulturbac.

Tabelle 6.

Kaninchenserum; das Exsudat aus demselben Tiere durch Aleuronatinjektion in die rechte Pleurahöhle erhalten, weiter wie Tabelle 5.

Versuch	Ergebnis
0,5 ccm Vollexsudat	= tierische Bac. reichlich
0,5 „ Exsudatflüssigkeit	= tierische Bac. reichlich
0,5 „ peptonhaltige NaCl-Lösung + Leukocyten	= Kulturbac.

0,5 ccm Kaninchenserum		= tierische Bac. reichlich
0,5 „ „	+ Leukocyten	= meist Kulturbac., weniger tier. Ba.
0,3 „ „	+ 0,15 pept. NaCl	= tierische Bac. in geringer Anzahl
0,3 „ „	+ 0,15 „ „ + Leukocyten	= Kulturbac. und weniger tier. Bac.
0,25 „ „	+ 0,25 „ „	= tierische und Kulturbac.
0,25 „ „	+ 0,25 „ „ + Leukocyten	= fast lauter Kulturbac.

Aus den Tabellen ist deutlich erkennbar, daß die Formveränderung der Bacillen im Serum bei der Anwesenheit der Leukocyten mehr oder weniger zurücktritt. Dieses Verhalten ist auch zu verzeichnen bei Anwesenheit von Leukocyten fremder Tierspecies im Serum, z. B. wenn Rinder- sowie Pferdeserum mit Leukocyten von Kaninchen resp. Meerschweinchen versetzt wurden. In den Präparaten wurde überall mehr oder weniger starke Phagocytose bemerkt. Es zeigt sich darin ein Unterschied gegenüber dem Verhalten der Milzbrandbacillen, die unter diesen Bedingungen nicht phagocytiert werden.

Weiterhin wurden die Versuche angestellt, den Einfluß andersartiger Körperzellen auf die Serumwirkung zu studieren.

Tabelle 7.

Kaninchenserum; die durch Intrapleuralinjektion von Aleuronat erhaltenen Leukocyten wurden einigemal gewaschen. Die Milz, ein gleichgroßes Stück der Leber und das Knochenmark aus beiden Oberschenkeln wurden im Mörser zerquetscht. Diese Organe und ein Teil der Leukocyten wurden mit je 3 ccm des aktiven Serums gemischt und 1 Stunde im Brutschrank belassen. Die Serumorgangemische wurden teils als solche verwendet, teils abzentrifugiert und die Abgüsse untersucht.

0,5 ccm KS		= tierische Bac. reichlich	
0,5 „ KS—Leukocyten		= meist Kulturbac., wenig. tier. Bac., Phagocyt	
0,5 „ KS—Milz		= ziemlich reichliche Bac.	lauter tier. B
0,5 „ KS—Leber		= sehr reichliche Bac.	manchmal
0,5 „ KS—Knochenmark		= wenige Bac., Phagocytose	etwas läng
0,25 „ KS	+ 0,25 pept. NaCl-Lösung	= meist tierische Bac.	
0,25 „ KS—Leukocyten	+ 0,25 „ „	= meist Kulturbac.	
0,25 „ KS—Milz	+ 0,25 „ „	= wenige Bac.	lauter tierische Bac.
0,25 „ KS—Leber	+ 0,25 „ „	= reichliche Bac.	
0,25 „ KS—Knochenmark	+ 0,25 „ „	= wenige Bac.	
0,5 „ KS—Leukocyten	(zentrifugiert)	= meist tierische Bac., weniger Kulturbac.	
0,5 „ KS—Milz	„	= wenige Bac.	lauter tierische Bac.
0,5 „ KS—Leber	„	= reichliche Bac.	
0,5 „ KS—Knochenmark	„	= wenige Bac.	
0,25 „ KS—Leukocyten	(zentrif.) + 0,25 pept. NaCl	= tierische und Kulturbac.	
0,25 „ KS—Milz	„ + 0,25 „ „	=	lauter tierische Bac.
0,25 „ KS—Leber	„ + 0,25 „ „	=	
0,25 „ KS—Knochenmark	„ + 0,25 „ „	=	

Tabelle 8.

Kaninchenserum; Leukocyten und Organe aus demselben Tiere wurden wie in Tabelle 7 behandelt.

0,5 ccm KS	= reichliche tierische Bac.	
0,5 „ KS—Leukocyten	= meist Kulturbac., weniger tierische Bac.	
0,5 „ KS—Milz	= ziemlich reichliche Bac.	alle Bac. sind so dick wie typisch t
0,5 „ KS—Leber	= reichliche Bac.	Bac., manchmal etwas länger als d
0,5 „ KS—Knochenmark	= wenige Bac.	selben, manchmal etwas blasser gefä
0,5 „ KS—Leukocyten (zentrifug.)	= Kulturbac. und tierische Bac. fast in gleicher Anzahl	
0,5 „ KS—Milz „	=	lauter dicke kurze Bac., wie typisch tierische Bac.
0,5 „ KS—Leber „	=	

In den mit Organzellen gemischten oder behandelten Seren wurden fast nur tierische Bacillen nachgewiesen, während in den mit Leukocyten behandelten wenige tierische und reichliche Kulturbacillen vorhanden

waren. Die tierischen Bacillen, welche im Serumorgangemische gewachsen sind, verhalten sich manchmal etwas abweichend von den typischen tierischen Bacillen, indem die ersteren zwar gleichdick wie die letzteren, aber oft etwas länger und weniger intensiv gefärbt sind. In dem mit Leberzellen behandelten Serum wuchsen die tierischen Bacillen reichlich, auffallend wenige Bacillen fanden sich im mit Knochenmark behandelten.

Nicht ohne Interesse ist es, daß der Typhusbacillus in den Formveränderungen, die er im Serum außerhalb des Tierkörpers erleidet, zwar im allgemeinen mit dem Milzbrandbacillus übereinstimmt, aber dabei doch in einigen Einzelheiten abweicht. Möglicherweise sind diese Abweichungen bedeutungsvoll. Sie bestehen zunächst in dem Verhalten gegen die Leukocyten. Während der mit Kapsel versehene animalisierte Milzbrandbacillus der Phagocytose so gut wie unzugänglich ist, erliegt ihr der Typhusbacillus in hohem Grade. Während der Milzbrandbacillus in einem Kaninchenserum, das z. B. Leberzellen in größerer Menge enthielt oder mit solchen behandelt wurde, keine Kapseln mehr erlangt, scheint das gleiche Verfahren für die Serumwirkung auf Typhusbacillus nur von geringem Einfluß zu sein. Die Versuche müssen erst erweitert werden, ehe vielleicht daraus Schlüsse für das abweichende Verhalten beider Mikroorganismen während der Infektion gezogen werden können.

Das Ergebnis der bisherigen Experimente läßt sich etwa in folgenden Sätzen kurz zusammenfassen:

1) Der Typhusbacillus nimmt sowohl während der Infektion im Tierkörper, als bei seinem Wachstum im Serum außerhalb des Tieres ein verändertes Aussehen an, das zwar nicht so auffallend ist wie das des Milzbrandbacillus unter gleichen Umständen, aber doch eine Unterscheidung von den z. B. auf Agar gezüchteten Bacillen gestattet.

2) Die Serumwirkung, welche diese Gestaltveränderung hervorbringt, hat mit der bakteriolytischen Aktivität nichts zu tun, da man sowohl den Immunkörper als das Komplement ohne wesentlichen Nachteil für diese animalisierende Serumwirkung entfernen kann.

3) Sie kann aber durch lebende Bacillen, die im Serum wachsen, aufgehoben werden.

4) Auch andere Körperflüssigkeiten haben animalisierende Fähigkeiten, während den Leukocyten keine solchen zukommen.

5) Organzellen, mit denen das Serum behandelt wird, mindern im Gegensatz zum Verhalten des Milzbrandbacillus die animalisierende Eigenschaft nicht wesentlich.

Zur Kenntnis der alkohollöslichen Bakterienhämolysine.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorstand: Regimentsarzt Dr. R. Doerr).]

Von Dr. **Hugo Raubitschek**, k. und k. Regimentsarzt.

In einer vor kurzem erschienenen Mitteilung[1]) konnte gezeigt werden, daß analog den zahlreichen vorliegenden Beobachtungen über thermostabile, alkohollösliche Hämolysine in den verschiedenen tierischen Geweben[2]) auch aus Bakterien und deren Kulturfiltraten derartige Stoffe (Lipoide) gewonnen werden können. In dieser Arbeit haben wir unsere Aufmerksamkeit hauptsächlich auf jene Gruppe von Mikroorganismen gelenkt, die [Gruppe II nach Přibram[3]) und Přibram und Russ[4])] sich von den echten Hämotoxinbildnern dadurch unterscheiden, daß die in ihren Kulturfiltraten nachweisbaren Hämolysine hitzebeständig sind, und deren Antigencharakter noch keineswegs bewiesen ist. In erster Linie waren es die Kulturfiltrate des Bacillus pyocyaneus, aus denen durch Behandlung mit warmem Alkohol resp. Aether ein fettartiger Stoff extrahiert werden konnte, dessen hämolytisches Vermögen auf Kaninchenblut geprüft wurde. In ähnlicher Weise konnten wir auch durch Behandlung von Pyocyaneus-Bacillenaufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung mit Alkohol oder Aether ein hitzebeständiges Hämolysin gewinnen. Schon damals sprachen wir die Vermutung aus, daß sich aus zahlreichen Bakterienarten derartige hämolytische Stoffe extrahieren lassen dürften. Ueber die in dieser Richtung angestellten Versuche soll in Folgendem kurz berichtet werden.

Die betreffenden Mikroorganismen, die zur Untersuchung kamen, wurden als Oberflächenkulturen in Agarflaschen bei Bruttemperatur auf entsprechenden Nährböden zur üppigen Entwickelung gebracht (die farbstoffbildenden Bakterien blieben ein paar Tage bei Zimmertemperatur im Gelatinekasten, bis reichlich Farbstoff produziert war). Hierauf wurde der Bakterienrasen in steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, die Bacillenemulsion mit einer mehrfachen Menge absoluten Alkohols versetzt und bei 37 oder 60° C bis 24 Stunden belassen. Dann wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert, das klare Filtrat am Wasserbad abgedampft, der Rückstand abermals in warmem Alkohol aufgenommen, filtriert und wieder abgedampft. Der nun entstandene Trockenrückstand wurde dann so exakt als möglich in steriler physiologischer Kochsalzlösung emulgiert.

In ähnlicher Weise wurden die betreffenden Bacillenemulsionen mit Aether, Chloroform, Benzin, Petroläther, Benzol behandelt, wobei hervorzuheben ist, daß die Alkohol-, Aether- und Benzinextrakte immer die

---

1) Landsteiner-Raubitschek, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907.

2) Vergl. Metschnikoff-Tarassevitsch, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899; 1902. Korschun-Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1902. Donath-Landsteiner, Wien. klin. Rundschau. 1902; Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. Noguchi, Proceed. of the soc. for experim. biolog. and med. Vol. IV. 1907. Landsteiner-Ehrlich, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. Orig. Bd. XLV. 1907.

3) Handb. d. pathog. Mikroorg. I. Ergänzungsbd.

4) Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforsch. Bd. I. 1907.

besten Resultate gaben. Minder gut wirkte Benzol und Chloroform, fast gar nicht Petroläther. Gleichzeitig wurden analog hergestellte Rückstände des verwendeten Alkohols, Aethers etc. als Kontrollen auf ihr hämolytisches Verhalten geprüft.

Dieser so hergestellte Alkoholextrakt aus Bakterien stellt eine mehr oder weniger milchig getrübte, bei den einzelnen Pigmentbakterien entsprechend gefärbte Flüssigkeit dar, deren hämolytisches Vermögen auch durch längeres Erhitzen (10 Minuten auf 100° C) nicht zerstört wird. Die Blutkörperchen lösende Eigenschaft ist in den schwächeren Konzentrationen besonders stark, nimmt jedoch rasch ab; das Tempo der Blutlösung ist ein für die Lipoidhämolyse charakteristisch langsames. In vielen Fällen tritt dieselbe erst nach 12—24-stündigem Verweilen im Eiskasten auf. Daß es sich tatsächlich um Stoffe handelt, die in Alkohol, Aether etc. löslich, in physiologischer Kochsalzlösung jedoch unlöslich sind, ersieht man daraus, daß das klare Papierfiltrat der getrübten Emulsionen nicht mehr hämolytisch wirkt. Ebenso gelingt es leicht durch intensives Ausschütteln mit Aether die ursprünglich getrübte Emulsion der Alkoholextrakte zu klären, und sie so ihres hämolytischen Vermögens völlig zu berauben[1]).

In erster Linie kamen Mikroorganismen zur Untersuchung, die einen Farbstoff produzieren, der, wie bekannt, im allgemeinen den Lipochromen nahesteht, so Bacterium Kiliense, Bacillus carneus, eburneus, Bacterium ruber balticum Koch, Bac. rodochroos, cinnabareus, cyanogenes, prodigiosus. Das Kulturfiltrat (Papier- und Reichel-Kerze) dieser Mikroorganismen ist auch in schwacher Verdünnung nicht hämolytisch. Der Rückstand ihrer Alkoholextrakte, die fast den gesamten Farbstoff in Lösung aufnehmen, hatte ein stärkeres hämolytisches Vermögen besonders für Kaninchenblut. Da sich diese hämolytischen Eigenschaften bei den angeführten chromogenen Arten als ungefähr gleich erwiesen, so möge von den vielen angestellten Versuchen hier nur einer als Beispiel angeführt sein.

Tabelle I.

Versuch mit Bacterium Kiliense; jede Eprouvette auf 1,0 mit NaCl aufgefüllt und mit 0,5 einer 3mal gewaschenen 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung geprüft. Abgelesen nach 2 Stunden bei 37° C und einer Nacht im Eiskasten.

Menge	Bacillenemulsion 1 Stunde 60° C	Kulturfiltrat Reichel	Alkoholextrakt, Rückstand in NaCl emulgiert
1,0	komplett	θ	komplett
0,5	fast komplett	θ	„
0,25	stark	θ	fast komplett
0,12	θ	θ	stark
0,06	θ	θ	Spur
0,03	θ	θ	θ
0,01	θ	θ	θ

In ähnlicher Weise wurden Mikroorganismen untersucht, die zur Gruppe der säurefesten Bacillen gerechnet werden. Bei diesen ist seit langem das Vorhandensein einer fettartigen, wachsähnlichen Substanz bekannt, die die „Säurefestigkeit“ bedingen soll.

1) Ueber andere (toxische) Eigenschaften ähnlich hergestellter Bakterienextrakte vergl. die Arbeiten von C. Vaughan und seiner Mitarbeiter (refer. Bull. de l'Inst. Pasteur. T. IV, V, VI) und auch E. Pick, Hofmeisters Beiträge. Bd. I (alkohollösliche Körper aus Bakterien geben mit dem spezifischen Serum Niederschläge).

Zur Untersuchung standen zur Verfügung B. Marpmann, B. lacticola L. R., Thimoteebacillen (Moeller).

Aus allen diesen Bakterien ließen sich durch entsprechende Alkohol- resp. Aetherbehandlung Stoffe extrahieren, die in ganz ähnlicher Weise Kaninchenblutkörperchen lösten wie oben beschrieben.

Anschließend daran kamen auch trockene zerriebene Tuberkelbacillen zur Untersuchung, wie sie von den Farbwerken Meister, Lucius und Brüning, Höchst a. M. zu anderen Zwecken in den Handel gebracht werden [1]).

Eine feine Emulsion dieser zerriebenen Tuberkelbacillen (0,1 in 10,0 NaCl lackmusneutral) wirkte nicht nur als solche auf Kaninchenblut schwach lösend, sondern das hämolytische Vermögen nahm auch (vielleicht durch feinere Verteilung) nach 10 Minuten langem Kochen bedeutend zu. Viel stärker wirkte der Alkohol- resp. Aetherextrakt dieser Tuberkelbacillen. In ähnlicher Weise wurde auch Nastin [2]), ein chemisch wohldefinierter kristallisierbarer Fettkörper, geprüft, der aus Streptothrix leproides fabriksmäßig dargestellt wird. 0,1 Nastin in 10,0 physiologischer Kochsalzlösung so exakt als nur möglich verrieben, zeigt eine relativ starke hämolytische Wirkung auf Kaninchenblutkörperchen, die, wie zu erwarten war, auch durch Siedehitze nicht beeinträchtigt wurde.

Schließlich wurden auf diese Weise noch eine Reihe der verschiedensten Mikroorganismen auf ihre Lipoidhämolyse mit positivem Erfolg untersucht (Kapselbacillen, Typhus- und Colibacillen, Choleravibrionen, verschiedene pathogene und nicht pathogene Blastomyceten), wobei besonders eingehend die Verhältnisse bei den Staphylokokken studiert wurden. Es war ja immerhin möglich, hier einiges Licht in die Frage nach dem Unterschied zwischen den pathogenen und nicht pathogenen Staphylokokken in ihrer Beziehung zur echten Hämotoxinproduktion zu bringen. Schon in der früheren Mitteilung [3]) konnten Landsteiner und Raubitschek zeigen, daß durch Behandlung eines Staphylolysins mit absolutem Alkohol in der angegebenen Weise eine schwach hämolysierende Flüssigkeit erhalten werden kann. Da überdies dieses Staphylolysin auch durch minutenlanges Erhitzen auf 100° C nicht völlig unwirksam wurde, so nahmen wir bei diesem Lysin neben dem eigentlichen Hämotoxin noch einen hitzebeständigen alkohollöslichen Körper an.

Es ist jedoch nicht gelungen, mit der angegebenen Methode einen Unterschied zwischen den pathogenen und nicht pathogenen Staphylokokken aufzufinden.

Anfangs schien es, als ob eine Aehnlichkeit zwischen dem Staphylolysin (Reichel-Filtrat) und dem hämolysierenden Alkoholextrakt desselben Stammes insofern bestünde, als beide auf Kaninchenblut bedeutend intensiver wirkten als auf Gansblut. Angestellte Kontrollversuche mit Lecithin- und Oelsäureemulsion zeigten jedoch, daß auch diese hämolysierenden Emulsionen auf Kaninchenblut stärker wirken als auf Gansblut, wie dies folgende Tabelle zeigt.

---

1) Vergl. Koch, R., Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 48.

2) Vergl. Deycke, Pascha und Reschad Bey, Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 3.

3) l. c.

Tabelle II.

Mit 0,5 einer 3mal gewaschenen 5-proz. Blutaufschwemmung geprüft, abgelesen nach 2 Stunden bei 37° C und einer Nacht im Eiskasten.

Mengen auf 1,0 mit NaCl aufgefüllt	Staphylolysin Reichel-Filtrat		Alkoholextrakt desselben Stammes		Lecithin[1]) (Merck) Ovo		Oelsäure[2])	
	Gans	Kaninchen	Gans	Kaninchen	Gans	Kaninchen	Gans	Kaninchen
1,0	kompl.	kompl.	f. kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,5	„	„	stark	„	f. kompl.	„	f. kompl.	„
0,25	„	„	θ	f. kompl.	stark	„	stark	„
0,12	f. kompl.	„	θ	stark	θ	f. kompl.	Spur	„
0,06	stark	„	θ	θ	θ	stark	θ	f. kompl.
0,03	θ	„	θ	θ	θ	Spur	θ	Spur
0,01	θ	„ [3])	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Ebenso habe ich mich vergebens bemüht, durch Bindung des Staphylolysins mit seinem spezifischen Antilysin den hitzebeständigen alkohollöslichen Körper im Staphylotoxin in den schwächeren Verdünnungen allein in Erscheinung treten zu sehen. Denn, obwohl anzunehmen war, daß dieser Körper kein Antigen ist, konnte doch das Antilysin (0,1 Antilysinserum von Ziegen) die hämolytische Wirkung des Staphylolysins in allen Verdünnungen aufheben. Da dieses Immunserum in derselben Dosis jedoch auch die Hämolyse des Staphylolysins, das 5 Minuten auf 100° C erhitzt wurde, hemmen konnte, so mußte man annehmen, daß das Serum als solches diese hemmende Wirkung ausübt.

Daß Normalserum die Fetthämolyse in mehr oder weniger ausgesprochener Weise zu hemmen im stande ist, haben in letzter Zeit unter anderen Landsteiner und Ehrlich[4]) gezeigt. Sie konnten die hämolytische Wirkung von Oelsäure und ölsaurem Kalium durch zugesetztes Pferdeserum hemmen. Ganz analoge Verhältnisse konnten auch bei den Alkoholextrakten der verschiedenen Bakterien beobachtet werden. Die hämolytische Wirkung kann in allen Fällen durch Zusatz von Normalserum gehemmt werden.

Tabelle III.

Alkoholextrakt aus Staphylokokken, hergestellt wie beschrieben, in der angegebenen Menge; in 4 Röhrchen der einen Reihe 0,1 Normalkaninchenserum, in den 4 anderen Röhrchen als Kontrolle überdies je 0,1 NaCl; geprüft mit Kaninchenblut wie in den früheren Versuchen.

Menge	Alkoholextrakt aus Staphylokokken	+ 0,1 Normalkaninchenserum
1,0	komplett	θ
0,5	stark	θ
0,25	Spur	θ
0,12	θ	θ

Dasselbe Phänomen dürfte auch Bermbach in seiner vor kurzem erschienenen Arbeit über Pyocyanase[5]) beobachtet haben, ohne es richtig zu deuten. Er wollte durch Injektion von Pyocyanase, die er selbst

1) 1-prom. Emulsion als Ausgangsflüssigkeit.
2) 1-proz. Emulsion als Ausgangsflüssigkeit.
3) Löst bis 0,0005 „deutlich".
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV.
5) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. Heft 4.

auf Grund angestellter Präzipitationsversuche als eiweißfrei bezeichnete, beim Kaninchen ein Immunserum erzeugt haben, mit welchem er die hämolytische Wirkung der Pyocyanase hemmen konnte.

Er hebt selbst das langsame Tempo der Hämolyse hervor und zweifelt, ob die Pyocyanase ein echtes Hämolysin enthält und ob sein Immunserum antilytisch wirkt.

Tatsächlich handelt es sich auch bei der Pyocyanase um ähnliche hitzebeständige alkohollösliche Lipoidhämolysine, die durch Normalserum gehemmt werden, wie die folgenden Tabellen zeigen [1]).

Tabelle IV.

5,0 Pyocyanase (Chem. Fabrik Lingner, lackmusneutral, sorgfältig dialysiert) werden in 10-facher Menge absoluten Alkohols gefällt, 24 Stunden bei 37° C extrahiert, filtriert, das stark gefärbte Filtrat am Wasserbad abgedampft, abermals in Alkohol aufgenommen, filtriert und abgedampft, der dunkelbraun gefärbte Rückstand möglichst exakt in 5,0 NaCl emulgiert, alle Röhrchen auf 1,0 mit NaCl aufgefüllt, mit 0,5 einer 5-proz., 3mal gewaschenen Kaninchenblutaufschwemmung geprüft, abgelesen nach 2-stündigem Verweilen im Thermostaten und einer Nacht im Eiskasten.

Menge	Pyocyanase (Orig.)	Pyocyanase 5 Min. 100° C	Alkoholextrakt
1,0	komplett	komplett	komplett
0,5	„	„	„
0,25	„	„	„
0,12	stark	fast komplett	fast komplett
0,06	Spur	stark	sehr stark
0,03	θ	θ	stark

Tabelle V.

Geprüft auf Kaninchenblut, Versuchsanordnung wie in Tabelle III.

Menge	Pyocyanase + je 0,2 NaCl	Pyocyanase + je 0,2 Normalkaninchenserum
1,0	komplett	komplett
0,5	„	fast komplett
0,25	„	Spur
0,12	„	θ
0,06	stark	θ
0,03	„	θ
0,015	Spur	θ
0,007	θ	θ

Es handelt sich auch hier um eine Lipoidhämolyse, die durch Normalserum gehemmt werden kann. Das Serum verliert jedoch diese hemmende Eigenschaft fast völlig durch ganz energische oftmalige Behandlung mit Aether oder Benzin; derartig entfettetes Serum allein löste in der verwendeten Menge als Kontrolle Kaninchenblut nicht (s. Tabelle VI).

Ob diese Tatsache mit dem Fett- resp. Cholesteaeringehalt des Serums, auf den unter anderen ausführlich v. Eisler [2]) hingewiesen hat, in einem ursächlichen Zusammenhange steht, müssen weitere Versuche lehren.

1) Ueber eine andere biologisch interessante Eigenschaft des Pyocyanaselipoids vergl. Raubitschek und Russ, Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 8.

2) Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therapie. Bd. III. (Lit.)

Tabelle VI.

Versuchsanordnung wie oben.

Menge	Oelsäure (1-proz. Emulsion) + je 0,2 NaCl	je 0,2 Normalkaninchenserum	je 0,2 Aetherkaninchenserum
1,0	komplett	fast komplett	komplett
0,5	„	sehr stark	„
0,25	„	Spur	fast komplett
0,12	fast komplett	θ	stark
0,06	stark	θ	Spur
0,03	Spur	θ	θ
0,01	θ	θ	θ

Wien, Ende Januar 1908.

Ueber den Bau der Opsonine.

[Aus dem Institut Pasteur in Brüssel.]

Von Dr. J. G. Sleeswijk in Leiden.

Bei einer früheren Gelegenheit (13) habe ich über Versuche berichtet, welche ich angestellt hatte, um die Rolle der sogenannten Opsonine in der cellulären Immunität zu studieren. Ich habe damals im Serum des Frosches einen thermolabilen Stoff nachweisen können, der sich auf Milzbrandbakterien fixiert und in dieser Weise Anlaß gibt zur Phagocytose, wofür dieser Stoff hier selbst unerläßlich scheint.

Ich habe meine Untersuchungen über dieses Thema fortgesetzt, mit dem speziellen Ziel, eine Antwort zu finden auf die schon mehrere Male aufgeworfene Frage: Sind die Opsonine besondere Substanzen sui generis, oder haben wir das Recht, sie zu identifizieren mit schon bekannten Immunkörpern? Mit Rücksicht auf diese Frage will ich aus der schon sehr reichen Opsoninliteratur nur diejenigen Publikationen erwähnen, welche für unser Thema besonderen Wert haben.

Von vornherein kann ich sagen, daß meine Arbeit mich zu dem Schlusse gebracht hat, daß die Nicht-Spezifität (oder vielleicht besser Nicht-Autonomie) der Opsonine mir sichergestellt scheint.

Im Grunde ist die Sache nicht neu. Metchnikoff und seine Schüler, Bordet (1) in seinen Studien über präventive Sera, später Savtchenko (2) bei den hämolytischen Seris, kurz, alle Untersucher, welche sich mit dem Studium der Antisera beschäftigten, haben deren begünstigenden Einfluß auf die Phagocytose erkannt. Die Erklärungsversuche dieses Einflusses waren aber verschiedene: Einerseits nahm man an, daß die Mikroben durch die spezifischen Sensibilisatoren präpariert werden für die Einwirkung des extra- oder intracellulären Alexins, während Metchnikoff daneben in den Seris noch die Stimuline annimmt mit ihrem direkten Einfluß auf die Leukocyten[1]).

Man hatte schon längst versucht, spezifische Substanzen zu finden, welche als Vermittler zwischen Bakterium und Phagocyt wirken. Man

---

1) Gegen die Ansichten einiger Forscher (Sauerbeck, Leishman) hält Metchnikoff seine Stimulintheorie aufrecht (cf. Lubarsch und Ostertags Ergebnisse, 1907).

ging dabei aus von der sicher festgestellten Tatsache, daß es Präventivsera gibt, die in vitro überhaupt keine bakterizide Wirkung haben, und daß diese Sera eben die Phagocytose besonders kräftig begünstigen.

Nachdem Denys und Leclef (3) schon früher diese Tatsachen für das Antistreptokokkenserum festgestellt hatten, haben später Neufeld und Rimpau (4) ihre Befunde bestätigt für den Streptococcus sowie für den Pneumococcus; sie nannten die Substanzen, welche sie in den Immunseris supponierten und welche die Phagocytose begünstigen sollten, Bakteriotropine.

Schon vor ihnen hatte Wright mit Douglas und mehreren Mitarbeitern eine spezielle Technik ausgearbeitet, womit man in vitro die Rolle von Serum, Phagocyt sowie Bakterium im Phagocytoseprozeß studieren konnte. Er wies im Blute und in anderen Körperflüssigkeiten Substanzen nach, die er Opsonine nannte. Diese Stoffe präparieren die Bakterien für die Phagocytose, indem sie sich auf den Bakterien fixieren; sie sind im allgemeinen thermolabil, in den Immunseris stark vermehrt und spezifisch.

Die Opsonine, von dem einen als besondere Substanzen aufgefaßt, werden von anderen, sei es mit den Sensibilisatoren, sei es mit dem Alexin identifiziert. Neuerdings nimmt Levaditi (5) mit zwei Mitarbeitern (Inmann und Koessler) eine Mittelstellung ein, indem er die Opsonine der normalen Sera mit dem Alexin und die der spezifischen Sera mit den Sensibilisatoren identifiziert, während Neufeld und Hüne (6) die Sonderstellung der letzteren als Bakteriotropine aufrecht erhalten. Muir und Martin (7) haben in einer Versuchsreihe, deren Technik teilweise mit meinen Versuchen übereinstimmt (Komplementbindung), die große Uebereinstimmung zwischen Alexin und Opsonin gezeigt.

Sehen wir jetzt, was unsere eigenen Untersuchungen uns gelernt haben: Ich will zuerst über das Wesen der Opsonine der Normalsera berichten. Bei meinen ersten Versuchen habe ich mich wieder der Froschleukocyten bedient, wovon ich wußte, daß sie die Eigenschaft, Milzbrandbacillen in sich aufnehmen zu können, nach dreimaliger Waschung mit physiologischer Kochsalzlösung vollkommen verloren haben, und daß frisches Serum sie wieder aktiv macht durch Fixation des Serumopsonins auf die Bakterien. Weiter hatte ich mich zuvor davon überzeugt, daß frisches Froschserum komplette Hämolyse von Rinderblutkörperchen hervorruft, welche mit inaktiviertem spezifischem Serum (Kaninchen-Rind) vorbehandelt worden sind. Wenn nun das Milzbrandopsonin des Froschserums mit dem Alexin identisch wäre, so müßte letzteres, nachdem wir es zuvor auf Bakterien fixiert hatten, nicht mehr imstande sein, sensibilisierte rote Blutkörperchen zu hämolysieren. Die ganze Untersuchung mit den Kontrollversuchen habe ich angestellt wie folgt:

A. In 6 ganz kleinen Röhrchen wird je ein Tropfen einer dicken Milzbrandbacillenemulsion (Agarkultur von 24 Stunden) zusammengebracht mit $^1/_{20}$, $^1/_{40}$, $^1/_{80}$, $^1/_{160}$, $^1/_{320}$, $^1/_{640}$ ccm frischen Froschserums; es wird richtig gemischt, $^1/_2$ Stunde im Kontakt gelassen und dann zentrifugiert.

B. Von der obenstehenden Flüssigkeit werden gleiche Quantitäten (je ein Tropfen) gebracht in 6 andere Röhrchen, von welchen jedes 0,5 ccm einer 5-proz. Emulsion von mit hämolytischem Sensibilisator beladenen Rinderblutkörperchen enthält.

C. Von den unter A genannten und nachher gewaschenen Bacillen werden gleiche Volumina zusammengebracht mit ebenfalls gleichen Volumina einer 3mal gewaschenen Froschleukocytenemulsion.

Man vergleicht dann den Grad der eventuell sofort sich zeigenden Phagocytose in C mit dem Grade der nach gehöriger Zeit in B sich zeigenden Hämolyse.

D. Zur Kontrolle nimmt man noch 6 Röhrchen, jedes mit 0,5 ccm derselben sensibilisierten Blutkörperchenemulsion wie in B und fügt je ein Tropfen gleicher Volumina von resp. $^1/_{20}$, $^1/_{40}$, $^1/_{80}$, $^1/_{160}$, $^1/_{320}$, $^1/_{640}$ ccm frischen Froschserums zu, das nicht zuvor mit Milzbrandbacillen behandelt worden war.

Das Resultat dieses Versuches ist folgendes:

1) In C nimmt die Intensität der Phagocytose ab von Röhrchen I bis VI. In I ist die Phagocytose sehr deutlich, in VI ist davon nichts mehr wahrzunehmen. Dies versteht sich, denn die Bacillen haben bei der fortschreitenden Serumverdünnung in A immer weniger Opsonin binden können;

2) in B tritt in keinem der 6 Röhrchen Hämolyse auf. Die Ursache davon könnte noch sein, daß die Verdünnungen des Serums in A zu stark genommen wären, um eine wahrnehmbare Alexinwirkung hervortreten lassen zu können. Dem ist aber nicht so, denn

3) in D ist in den 4 ersten Röhrchen noch abnehmende Hämolyse, während diese in den 2 letzten Röhrchen ausbleibt. (Hier war die Serumverdünnung also wirklich zu stark.)

Dieser Versuch lehrt uns also:

a) daß mit dem Opsonin zugleich auch das Alexin fixiert wird;

b) daß der Wirkungsgrad von Opsonin und Alexin bei fortschreitenden Serumverdünnungen in gleichem Maße abnimmt.

Der Parallelismus zwischen Opsonin- und Alexinwirkung ist also auffallend.

Nun habe ich auch den umgekehrten Versuch gemacht, um mich davon zu überzeugen, ob ein Normalserum, das vorher behufs Komplettierung mit sensibilisierten Blutkörperchen in geeigneten Mengen zusammengebracht ist, mit dem Alexin auch sein Opsonin verloren hat. Es könnte nun möglich sein, daß die nach Zusatz frischen alexinhaltigen Serums zu sensibilisierten Blutkörperchen eintretende Hämolyse den späteren Phagocytoseversuch mit diesem Sernm beeinträchtigte und die opsonische Wirkung hemmte. Diese Ueberlegung veranlaßte mich, mich des frischen Pferdeserums zu bedienen, dessen Alexin sich bekanntlich sehr gut auf sensibilisierte Blutkörperchen fixiert, jedoch keine Hämolyse verursacht. Auch hatte ich mich zuvor davon überzeugt, daß das Pferdeserum einen kräftigen opsonischen Effekt hat, wenn es mit Milzbrandbacillen und gewaschenen Froschleukocyten zusammengebracht wird. Die Technik des ganzen Versuches gestaltet sich wie folgt:

Röhrchen A enthält: 2 ccm einer 3mal gewaschenen 5-proz. Emulsion von Rinderblutkörperchen und 0,2 ccm inaktivierten spezifisch-hämolytischen Serums (Kaninchen-Rind).

Röhrchen B enthält: dasselbe Quantum Blut wie A und 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Es wird richtig gemischt und die Mischung $^1/_4$ Stunde sich selbst überlassen. Dann werden die beiden Röhrchen mit Kochsalzlösung weiter gefüllt, geschüttelt, zentrifugiert und alle Flüssigkeit genau abpipettiert. Man fügt dann dem Zentrifugat in jedem der beiden Röhrchen 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 0,1 ccm frischen Pferdeserums hinzu, schüttelt und läßt die Gemische während 2 Stunden in Kontakt. Dann wird zentrifugiert und die Flüssigkeit zum weiteren Versuch benutzt.

Es ist klar, daß, wenn man die Quantitäten richtig gewählt hat (und das ist hier der Fall), in Röhrchen A alles Alexin des Pferdeserums durch die sensibilisierten Blutkörperchen gebunden worden ist, während es in Röhrchen B noch frei in der Flüssigkeit gelöst anwesend ist. Zur definitiven Kontrolle können wir uns einer Erscheinung bedienen, welche von Ehrlich und Sachs (8) einerseits, Bordet und Gay (9) andererseits diskutiert worden ist, bezüglich der Erklärung des Phänomens der Komplementablenkung. Wir wollen uns hier in diesen theoretischen Kampf nicht einlassen, allein die Tatsache erwähnen, daß das Zusammenbringen von verdünntem gewaschenem Meerschweinchenblut mit inaktiviertem Rinderserum und frischem Pferdeserum in geeigneten Quantitäten zu einer schnellen und sehr kräftigen Agglutination (und später Hämolyse) Veranlassung gibt, für welche Erscheinung das Alexin des Pferdeserums nötig ist.

Wir nehmen jetzt 2 andere Röhrchen (a und b), welche beide 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung und einen Tropfen verdünnten (1:10) und gewaschenen Meerschweinchenbluts und $^1/_2$ Tropfen inaktivierten Rinderserums enthalten. Die Mischung a wird versetzt mit einem Tropfen Flüssigkeit aus Röhrchen A, während der gleichen Mischung b ein Tropfen Flüssigkeit aus Röhrchen B hinzugefügt wird. Während nun in dem Gemisch b nach ungefähr 10 Minuten die Blutkörperchen deutlich agglutiniert sind, ist die Agglutination in a noch vollkommen ausgeblieben und bleibt auch weiter aus. Die Flüssigkeit B enthält also freies Alexin, A aber nicht mehr.

Sehen wir jetzt, wie es mit der opsonischen Kraft dieser beiden Flüssigkeiten steht. Dazu werden die in der folgenden Tabelle angegebenen Mischungen hergestellt, wobei von den verschiedenen Komponenten stets die gleichen Mengen genommen werden (je ein Tropfen in einem hohlen Objektträger und mit einem Deckgläschen von der Luft abgeschlossen). Nach einem Kontakt von 30 Minuten werden Ausstrichpräparate angefertigt. Die Zählungen eines meiner Versuche gaben folgendes Resultat:

1.	gewaschene Froschleukocyten Milzbrandbacillenemulsion physiologische Kochsalzlösung	keine Phagocytose	
2.	Froschleukocyten Milzbrandbacillenemulsion Flüssigkeit aus Röhrchen A	wie in 1	28 Proz. der gezählten Leukocyten sind in Phagocytose begriffen
3.	Leukocyten Milzbrand Flüssigkeit aus Röhrchen B	wie in 1 u. 2	78 Proz. der Leukocyten haben phagocytiert
4.	Leukocyten Typhusbacillenemulsion physiologische Kochsalzlösung	minimale Phagocytose	
5.	Leukocyten Typhusbacillenemulsion Flüssigkeit A	19 Proz. der gezählten Leukocyten sind mehr oder weniger mit Typhusbacillen ausgefüllt	
6.	Leukocyten Typhusbacillenemulsion Flüssigkeit B	83 Proz. der Leukocyten haben phagocytiert	

Dieser Versuch lehrt also, daß mit dem Alexin auch das Opsonin zum weitaus größten Teile aus einem Serum verschwindet.

Ich möchte hier noch einen letzten Alexinbindungsversuch herbeiführen zur Stütze der Auffassung der Identität von Normalopsonin und Alexin. Bekanntlich wird Kaninchenblut von frischem Hundeserum stark hämolysiert: In geeigneten Mengen zusammengebracht, ziehen die Kaninchenblutkörperchen alle normalen Sensibilisatoren und alles Alexin des

Hundeserums an sich. Diese Tatsache wird in diesem Versuch in der folgenden Weise verwendet:

Röhrchen I: 0,2 ccm normales defibriniertes Kaninchenblut wird 3mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen; nach der dritten Waschung wird alle Flüssigkeit abpipettiert. Dem Blutkörperchenzentrifugat wird 0,2 ccm frischen Hundeserums und 2 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung hinzugefügt. Es wird richtig gemischt. Kontakt 2 Stunden.

Röhrchen II: 0,2 ccm einer dicken Milzbrandbacillenemulsion (Agarkultur von 24 Stunden) wird versetzt mit 0,2 ccm frischen Hundeserums und 2 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung. Mischen. Kontakt 2 Stunden.

Nach 2 Stunden werden beide Röhrchen zentrifugiert; in I ist starke Hämolyse aufgetreten. Zur Kontrolle der Flüssigkeit aus Röhrchen II auf Alexingehalt bringt man jetzt in 3 neuen Röhrchen die folgenden Mischungen:

A. 0,5 ccm gewaschenes Kaninchenblut
1 Tropfen frisches Hundeserum.
B. 0,5 ccm gewaschenes Kaninchenblut
1 Tropfen Flüssigkeit aus Röhrchen II.
C. 0,5 ccm gewaschenes Kaninchenblut
1 Tropfen physiologische Kochsalzlösung.

Kontakt 2 Stunden. Resultat:

A. Hämolyse.
B. Schwache Hämolyse, deutlich schwächer als in A.
C. Keine Hämolyse.

Die Hämolyse in A ist natürlich schwächer als in Röhrchen I, weil in diesem letzteren Röhrchen gleiche Teile Blut und Serum zusammengebracht worden sind und die Verdünnung des Serums in A viel stärker ist. Hauptsache ist, daß die schwächere Hämolyse in B beweist, daß in Röhrchen II Bindung des Alexins an die Bakterien stattgefunden hat. Mit der Flüssigkeit aus Röhrchen I kann natürlich diese Kontrollprobe nicht angestellt werden, weil hier schon Hämoglobin gelöst ist.

Es werden jetzt noch die folgenden Opsoninversuche angestellt:

1. gewaschene Hundeleukocyten Milzbrandbacillen frisches Hundeserum	sehr starke Phagocytose	
2. Leukocyten Milzbrand Flüssigkeit aus Röhrchen I	wie in 1	schwache Phagocytose
3. Leukocyten Milzbrand Flüssigkeit aus Röhrchen II	wie in 1 u. 2	schwache Phagocytose
4. Leukocyten wie in 1, 2 und 3 Bacillen aus Röhrchen II, 1mal gewaschen kein Serum, nur etwas Salzlösung		sehr starke Phagocytose

Das Opsonin ist also zum größten Teile, zugleich mit dem Alexin, aus dem Hundeserum verschwunden (2 und 3) und hat sich in Röhrchen I auf die Blutkörperchen (Hämolyse) und in Röhrchen II auf die Bakterien fixiert (4).

Alles Erwähnte gibt uns die Ueberzeugung, daß beim Normalserum der Parallelismus zwischen Alexin- und Opsoninwirkung so weit geht, daß die beiden nicht weiter als gesondert betrachtet werden können, sondern identifiziert werden müssen. Diese Schlußfolgerung steht sehr gut im Einklang mit der mehrfach festgestellten und auch von mir für das Froschserum nachgewiesenen Tatsache, daß das normale Opsonin thermolabil ist.

Den Unterschied zwischen Opsonin und Agglutinin im Froschserum gegenüber Milzbrandbacillen habe ich früher (13) schon nachweisen

können durch die verschiedenen Temperaturen, bei denen sie vernichtet werden (Opsonin bei 56°, Agglutinin bei 70°). Ein weiterer Beweis findet sich noch in den Versuchen 5 und 6 der Versuchsreihe auf p. 516. Hier sind die Unterschiede im Grade der Phagocytose besonders groß, während die extracellulären Typhusbacillen in den Präparaten beider Versuche durch das Pferdeserum gleich stark agglutiniert wurden.

Zur Erforschung des Opsonins spezifischer Sera habe ich mich hämolytischer Sera bedient. Savtchenko (2) hat früher schon gezeigt, daß die mit spezifischen hämolytischen Sensibilisatoren beladenen Blutkörperchen sehr leicht den Leukocyten zum Opfer fallen[1]). Metchnikoff (10) selbst hat sich dieser Auffassung angeschlossen und den Fixatoren im allgemeinen eine begünstigende Rolle bei der Phagocytose zugeschrieben. Später, als nach Wrights Untersuchungen von den Opsoninen die Rede war, hat man auch in spezifisch hämolytischen Seris Blutkörperchenopsonine nachweisen wollen. Sehen wir, ob man dazu berechtigt war. Bei Versuchen mit einem Makrophagenexsudat eines Kaninchens war es mir schon aufgefallen, daß die gewaschenen Leukocyten, rote Blutkörperchen des Rindes, welche zuerst mit spezifischen hämolytischen Sensibilisatoren (inaktiviertes Serum Kaninchen-Rind) und dann mit Alexin (frisches Pferdeserum) vorbehandelt worden waren, besonders kräftig in sich aufnahmen, daß aber nur sensibilisierte, nicht alexinierte Blutkörperchen auch, aber in geringerem Maße, den Leukocyten zum Opfer fielen. Gewaschene, nicht vorbehandelte Blutkörperchen wurden nicht phagocytiert. Ich habe die Sache dann nochmals bei Hundeleukocyten studiert, womit, nachdem sie 3mal gewaschen worden waren, die folgenden Mischungen angefertigt wurden:

1. Leukocyten
   3mal gewaschene Rinderblutkörperchen
2. Leukocyten
   sensibilisierte Blutkörperchen
3. Leukocyten
   sensibilisierte und darauf alexinierte Blutkörperchen
4. Leukocyten
   Blutkörperchen + Alexin

Kontakt 1 Stunde bei 37°. Das Blut unter 2 und 3 wird nach jeder Vorbehandlung wieder mit Kochsalzlösung gewaschen, wodurch nur die Serumbestandteile, welche die Körperchen auf sich fixiert behalten, eine Wirkung entfalten können und alles andere weggeschafft wird. Der Versuch gibt als Resultat, daß in 1 und 4 die Phagocytose ungefähr Null ist; in 2 ist sie schon ziemlich kräftig, während es in 3 beinahe keinen Makro- oder Mikrophagen gibt, welcher nicht zu ein oder mehreren Blutkörperchen in Beziehung getreten ist. Das nicht fixierte Alexin (4) vermag also die Phagocytose nicht anzuregen, während es, durch die spezifischen Sensibilisatoren auf die Blutkörperchen fixiert, die an sich schon kräftige Sensibilisatorwirkung (2) noch zu verstärken vermag (3).

Aehnliche Versuche mit einer anderen hämolytischen Serumart (Kaninchen-Ziege) und Ziegenblutkörperchen gaben ganz übereinstimmende Resultate.

Ein spezifisches Serum, das hämolytisch aber nicht zugleich hämotrop war, und wovon Neufeld und Töpfer (14) berichten, habe ich bis jetzt nicht begegnet. Wohl aber zeigen unsere Resultate einen deutlichen Parallelismus mit den Befunden Levaditis (5) bei antibakteriellen

1) Man muß bedenken, daß man damals noch mit ungewaschenen Exsudatleukocyten arbeitete und also andere Einflüsse (Alexinwirkungen) nicht ausschließen konnte.

Seris. Auch in unseren hämolytischen Seris ist ein thermostabiles Opsonin, das sich auf die Blutkörperchen fixiert und so Phagocytose veranlaßt. Es leuchtet sofort ein, daß auch hier das Opsonin mit dem spezifischen Sensibilisator identifiziert werden muß. Man kann auch wirklich einem hämolytischen Serum durch Vorbehandlung mit den betreffenden Blutkörperchen seine spezifischen Sensibilisatoren entziehen, und dann nachweisen, daß es damit zu gleicher Zeit seine opsonische Kraft in demselben Maße eingebüßt hat. So hat auch Wakelin Barratt (11) bei seinen Versuchen über quantitative Opsoninresorption durch Blutkörperchen aus einem inaktivierten hämolytischen Serum bloß mit den spezifischen Sensibilisatoren gearbeitet. Fügt man nun ein frisches spezifisches Serum zu Blutkörperchen oder Bakterien hinzu, so bekommt man eine kombinierte lytische sowie opsonische Wirkung von Sensibilisator und Alexin, welche wir in den Versuchen 2 und 3 getrennt haben.

Kehren wir jetzt noch einen Augenblick zu unseren Versuchen mit Normalserum zurück. Wir haben gesehen, daß mit dem Alexin zugleich auch das Opsonin durch spezifische Sensibilisatoren fixiert oder durch Erwärmung vernichtet wird. Es bleiben aber auch in den Normalseris nach Fixation oder Vernichtung des Opsonins (Alexins) noch fast immer einige Opsoninwirkungen übrig (cf. p. 516 Versuch 2 und Versuch 5), die in den spezifischen Seris viel größer sind. Und da wir uns bis jetzt noch nicht veranlaßt sehen, anzunehmen, daß in Normalseris das Alexin sich ohne Vermittelung von Sensibilisatoren auf Bakterien fixiert, so haben wir die opsonische Wirkung, sei es von normalen oder von spezifischen Seris, prinzipiell als eine kombinierte Sensibilisator-Alexinwirkung aufzufassen. Im Normalserum wird diese hauptsächlich durch das Alexin verursacht, im spezifischen Serum wird sie noch besonders verstärkt und hauptsächlich durch den Sensibilisator veranlaßt. Ich schließe mich also der von Dean (12) geäußerten Meinung von der dualistischen Komplexität der normalen sowie der spezifischen Opsonine an[1]).

Ich möchte diesen Aufsatz nicht abschließen, ohne Herrn Prof. Bordet meinen herzlichen Dank auszusprechen für seine hochgeschätzten Ratschläge und für das freundliche Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat.

Leiden, 1907.

Literatur.

1) Annales Pasteur. 1896.
2) Annales Pasteur. 1902.
3) La Cellule. 1895.
4) Deutsch. med. Wochenschr. 1904 und Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1905.
5) C. R. Soc. de Biologie. April und Mai 1907.
6) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1907.
7) Brit. med. Journal. Dezember 1906.
8) Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 21.
9) Annales Pasteur. Juni 1906.
10) Handb. der pathog. Mikroorg. Bd. IV. Teil I.
11) Proc. Roy. Soc. Vol. LXXVI. 1905 und Vol. LXXIX. 1907.
12) Proc. Roy. Soc. 1905 und 1907.
13) Annales Pasteur. Dezember 1907.
14) Diese Zeitschr. Bd. XXXVIII. p. 456.

1) Siehe weiter meine Dissertation „Phagocytose en Opsoninen“, Amsterdam 1908, wo ich das Wesen der Opsonine und ihre Wirkung ausführlicher auseinandergesetzt habe.

Experimentelle Untersuchungen über die Eigenschaften der elektrolytischen Bleichlaugen.

[Aus der Medizinaluntersuchungsstelle der Königlichen Regierung in Bromberg.]

Von Dr. **H. Pusch,** Leiter der Untersuchungsstelle.

Mit 1 Figur.

Einleitung.

Läßt man einen elektrischen Strom auf eine wässerige Kochsalzlösung einwirken, so tritt eine Reihe komplizierter elektrochemischer Prozesse ein, deren Endresultat sich durch folgende Gleichung ausdrücken läßt:

$$NaCl + H_2O = NaClO + H_2.$$

Eine Darstellung von dem Verlauf der in Betracht kommenden Vorgänge findet sich in der Monographie von E. Abel, „Hypochlorite und elektrische Bleiche“, worin der Reaktionsmechanismus vom Standpunkte der Ionentheorie ausführlich behandelt wird.

NaClO, das unterchlorigsaure Natrium oder Natrium-Hypochlorit, spielt in der modernen Technik eine überaus wichtige Rolle; es ist der Hauptrepräsentant der Hypochlorite, das Hypochlorit κατ' ἐξοχήν. Die unterchlorige Säure, ClOH, teilt mit den übrigen Sauerstoffsäuren des Chlors die Eigenschaft, daß sie wenig konstant ist und das Bestreben hat, ihren Sauerstoff abzugeben und dabei andere Körper heftig zu oxydieren. Dasselbe gilt in gleichem Maße von dem Natrium-Hypochlorit; dieses letztere wird durch Abgabe seines Sauerstoffmoleküls wieder in NaCl übergeführt.

Seit einer Reihe von Jahren werden die wässerigen Lösungen des auf elektrolytischem Wege aus Kochsalzlösungen hergestellten Natrium-Hypochlorits von verschiedenen Industriezweigen als Bleichlaugen benutzt. Die älteste und bekannteste Art, Faserstoffe zu bleichen, ist die sogenannte Rasenbleiche, die auch jetzt noch vielfach angewandt und der von manchen Fachmännern für gewisse Fasern ein entschiedener Vorzug zuerkannt wird. Allein wegen ihrer Abhängigkeit von den Witterungsverhältnissen — staub- und rußfreie Atmosphäre und weite, sonnige Rasenflächen sind ihre unerläßliche Vorbedingung — und wegen ihrer immerhin ziemlich umständlichen Handhabung entspricht sie nicht mehr den Bedürfnissen der modernen Industrie, die schnelle und rationelle Arbeit beim Betriebe verlangt. Von den zum Ersatz der Rasenbleiche herangezogenen künstlichen Bleichmitteln hat der vor 100 Jahren eingeführte Chlorkalk wohl die bei weitem ausgedehnteste Verbreitung gefunden. Indessen seine große Unbeständigkeit gegenüber dem Licht, die ja trotz seiner vorzüglichen keimtötenden und desodorierenden Eigenschaften seiner Verwendung in der hygienischen Praxis gewisse Einschränkungen auferlegt, macht sich auch bei seiner Verwendung auf dem technischen Gebiete recht unangenehm bemerkbar. Ein weiterer Uebelstand ist das auch dem Nichtfachmann bekannte Brüchigwerden der Wäsche bei Chlorkalkbleiche. Dasselbe soll darauf beruhen, daß infolge der sehr schwierigen Bereitung der erforderlichen klaren Bleichlösung sich fast stets auf der Faser ein feiner Niederschlag von kohlensaurem

Kalk bildet, der die Faser verkrustet, das Durchbleichen verhindert und sich nur sehr schwer wieder auswaschen läßt, so daß beim Trocknen feinste Kalkteilchen in der Faser zurückbleiben, die ein Nachgilben derselben zur Folge haben.

Bei dem Suchen nach einem Bleichmittel, das die den bisherigen Bleichmethoden anhaftenden Mängel vermeidet, hat man in den letzten Jahren die Beobachtung gemacht, daß die in der eingangs beschriebenen Weise erzeugten Kochsalz-Elektrolytlaugen eine vollkommen klare und äußerst kräftige Bleichlösung darstellen und sich mit gutem Erfolg als Ersatz der Rasen- wie der Chlorkalkbleiche verwenden lassen, da ihr wirksamer Bestandteil, das Natrium-Hypochlorit, bei Ausführung des Bleichprozesses wieder in wasserlösliches und darum aus der Wäsche leicht entfernbares Kochsalz zurückverwandelt wird. Wegen seiner mannigfachen Vorzüge hat dieses sogenannte elektrische Bleichverfahren besonders in den Kreisen der Textil-, Cellulose- und Papierindustrie eine beachtenswerte Verbreitung gefunden.

Neben ihrem Bleichvermögen haben die Hypochloritlaugen noch eine Reihe anderer, auch den Hygieniker interessierender, praktisch ausnutzbarer Eigenschaften, die ich auf Anregung meines hochverehrten vormaligen Chefs, des Prof. Dr. Nauwerck, einer eingehenden experimentellen Prüfung unterzogen habe und über deren Resultat ich im folgenden unter Zugrundelegung der Versuchstabellen berichten will[1]).

Herstellung der Bleichlaugen.

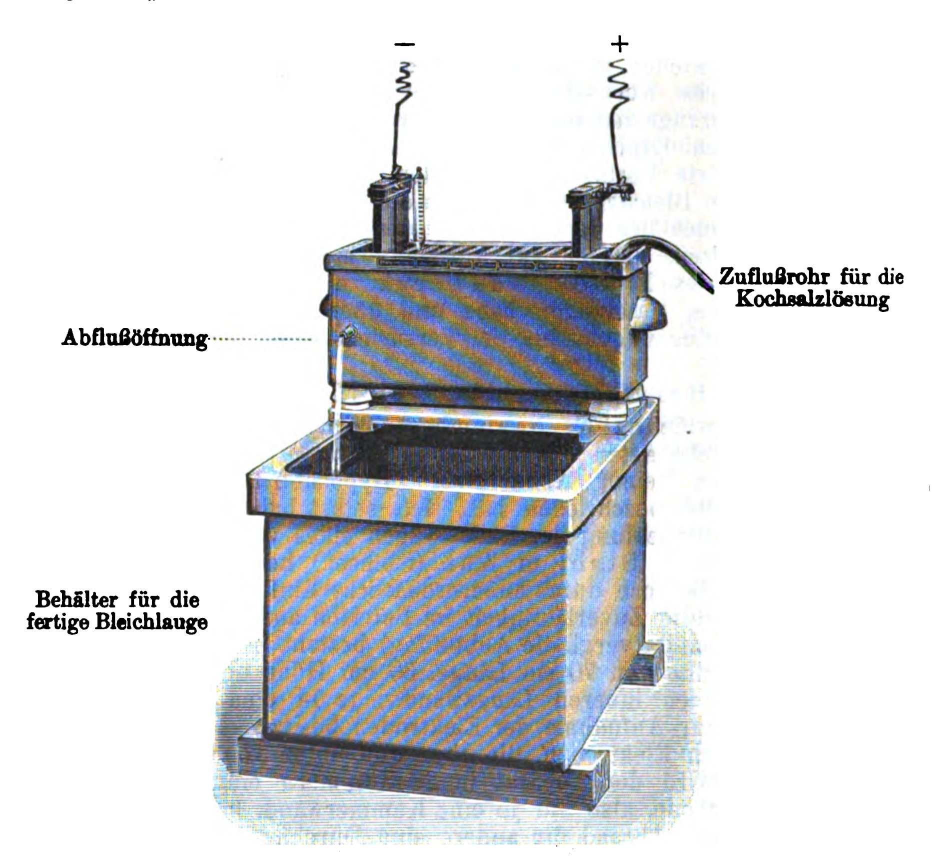
Für die Gewinnung des Natriumhypochlorits aus Kochsalzlösungen gibt es verschiedene Arten von Elektrolyseuren, deren Konstruktion Engelhard in seiner Abhandlung „Hypochlorite und elektrische Bleiche“ eingehend beschrieben hat. Ich selbst habe mich bei meinen Versuchen zur Entwicklung der Bleichlaugen eines von der Elektrizitätsgesellschaft Haas & Stahl in Aue (Sachsen) hergestellten Elektrolyseurs bedient, der sich durch außerordentliche Einfachheit seiner Handhabung und absolute Zuverlässigkeit im Betriebe auszeichnete. Der von mir benutzte Apparat (vergl. die Abbildung) besteht im wesentlichen aus einer Steingutwanne von 70 cm Länge, 30 cm Höhe und 30 cm Breite, die auf den beiden inneren Längswänden je 14 einander gegenüberliegende Nuten zur Aufnahme der Elektroden besitzt. Durch Einsetzen der kohleähnlichen Elektroden, die oben und unten von Glasstegen eingefaßt werden, wird der Apparat in 28 Kammern eingeteilt. Da nur jede zweite Elektrode, also nur je eine Kammerwand, bis auf den Boden der Wanne reicht, während die andere eine Durchflußöffnung am Boden freiläßt, so muß die zu elektrolysierende Salzlösung an den Elektroden entlang fließend die Kammern des Apparates im Schlangenweg passieren. In der letzten Kammer befindet sich eine Oeffnung mit Hahn zum Ablassen der fertigen Elektrolytlauge. In die erste und letzte Kammer tauchen die der Stromzuleitung dienenden Endelektroden, die an ihrem über die Wanne hinausragenden freien Ende eine Metallschiene mit einer Klemme zum Befestigen der Leitungsdrähte haben. Diese letzteren werden so angebracht, daß der negative Pol an die

1) In der mir zur Verfügung stehenden Literatur fand ich von den Eigenschaften der Elektrolytlaugen nur ihre desinfizierende Wirkung erwähnt und zwar in der zusammenfassenden Uebersicht von Kausch, Desinfektions- und Konservierungsmittel (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. 1903).



Elektrode in der mit der Abflußvorrichtung versehenen Elektrolyseurzelle zu liegen kommt.

Für die Speisung des Apparates ist Gleichstrom von 65, 110 oder 220 Volt Spannung und bei 110 Volt (maximal) ca. 15 Ampère Stromstärke erforderlich. Zum Betriebe werden die Poldrähte in der oben beschriebenen Anordnung an den Elektroden befestigt und der Apparat mit Kochsalzlösung gefüllt. Die Konzentration der Kochsalzlösung richtet sich ganz danach, ein wie großer Gehalt der Elektrolytlauge an „aktivem Chlor" verlangt wird. Da es bei meinen Ver-



suchen darauf ankam, möglichst starke Laugen herzustellen, so habe ich mich einer 12-proz. Kochsalzlösung (= etwa 10° Baumé) bedient.

Beim Schließen des Stromes tritt sofort in allen Elektrolyseurzellen eine lebhafte Gasentwickelung — Sauerstoff an der positiven, Wasserstoff an der negativen Elektrode — und deshalb ein starkes Aufschäumen der Kochsalzlösung ein. Die Temperatur steigt dabei rasch an; nach etwa 10—15 Minuten, entsprechend der wärmeren oder kälteren Jahreszeit, erreicht die Temperatur in den letzten Elektrolyseurzellen 40°, während das Ampèremeter, von minimalen Schwankungen abgesehen, die gleichgroße Stromstärke wie zu Beginn des Versuches (= 8 Amp.) anzeigt. Nunmehr wird das Ablaufventil geöffnet

und die hervortretende Lauge in Gefäßen aus Steinzeug, Zement, Glas oder Blei aufgefangen, während man gleichzeitig aus einem Behälter mit Kochsalzlösung eine entsprechende Menge neuer Salzlösung dem Apparat zufließen läßt. An den im Apparat aufsteigenden Gasbläschen kann man deutlich verfolgen, wie die Salzlösung, langsam von einer Elektrolyseurzelle zur andern fließend, allmählich nach dem in der Ablaufzelle gelegenen negativen Pol hinströmt. Bei einiger Uebung gelingt es leicht, Zufluß und Abfluß und die Durchlaufsgeschwindigkeit in ein konstantes Verhältnis zueinander zu bringen, so daß die Temperatur in den letzten Elektrolyseurzellen eine gleichmäßige Höhe beibehält. Bei den von mir angestellten Versuchen wurde die Temperatur zumeist auf 35° erhalten; das Ampèremeter zeigte dabei eine Stromstärke von 8 Amp. an. Diese Anordnung ermöglichte es, in etwa $^1/_2$ Stunde ca. 10 l 12-proz. Kochsalzlösung in eine Hypochloritlauge von 5—6 g aktiven Chlor im Liter umzuwandeln.

Nach Abschluß der Entwickelung wird der Apparat ausgespült, um die Innenwände, namentlich aber die Elektroden von etwaigen, bei der Elektrolyse auftretenden Nebenprodukten (Kalkniederschlägen u. s. w.) zu befreien.

Titration der Lauge.

Die Stärke der Hypochloritlaugen wird ausgedrückt durch die Angabe, wieviel Gramm aktives Chlor in 1 l der Lauge enthalten sind. Die Bestimmung des Chlorgehaltes wird mit einer Natrium-Thiosulfat-Lösung vorgenommen — 21,0 g Natrium-Thiosulfat von der Formel $Na_2S_2O_3 + 5 H_2O$ gelöst in 1000 ccm Aq. dest. — von der je 10 ccm einem Gehalt der Elektrolytlauge von 6 g aktivem Chlor in 1 l entsprechen.

Bei Ausführung der Titration gibt man 5 ccm von der Lauge in ein Becherglas und verdünnt unter fortwährendem Umschütteln mit etwa $1^1/_2$ ccm Aq. dest.; darauf fügt man (gleichfalls unter Umschütteln) etwa 1 ccm 10-proz. Jodkaliumlösung zu, wodurch die Flüssigkeit (durch das ausgeschiedene Jod) eine braunrote Färbung vom Aussehen der Lugolschen Lösung erhält. Schließlich kommen noch etwa $1^1/_2$ ccm 30-proz. Essigsäure hinzu. Unter ständigem Umschütteln gibt man hierauf tropfenweise so lange Natriumthiosulfatlösung hinzu, bis die braunrote Flüssigkeit völlig entfärbt ist und ein wasserklares Aussehen erlangt hat. Da 10 ccm Thiosulfatlösung 6 g Chlor entsprechen, so ergibt sich der Gehalt der Lauge an aktivem Chlor (1 g in 1 l) aus folgender Berechnung:

10 : 6 = Zahl der verbrauchten Kubikcentimeter Thiosulfat : x.

Eigenschaften der Lauge.

Die den Apparat verlassende Lauge ist eine wasserhelle, schwach nach Chlor riechende Flüssigkeit, die nach dem schnell sich vollziehenden Absetzen der wenigen aus dem Apparat stammenden Schmutzteilchen, Kalkniederschläge u. s. w. ein kristallklares Aussehen erlangt. Die Stärke der entwickelten Lauge hängt von der Durchflußgeschwindigkeit und der Konzentration der Kochsalzlösung ab. Je länger der elektrische Strom auf diese letztere einwirkt, desto höher steigt die Temperatur und desto stärker wird die Lauge. Zur Schonung des Elektrodenmaterials ist es ratsam, die Temperatur nicht über 40° zu steigern und in Fällen, in denen hochprozentige Laugen verlangt

werden, eine entsprechend stärkere Kochsalzlösung zur Füllung des Apparates zu benutzen.

Um zu entscheiden, in welcher Weise die Konzentration der Laugen während der einzelnen Phasen des elektrolytischen Prozesses sich ändert und wie es fernerhin mit der Haltbarkeit der Laugen bestellt ist, insbesondere ob ein Unterschied in der Haltbarkeit zwischen den zuerst und den zuletzt abfließenden besteht, wurden bei einem Versuch während verschiedener Entwickelungsphasen Proben in durchsichtigen Glasstöpselflaschen zu $^1/_2$ l Inhalt aufgefangen und die Flaschen der Reihenfolge nach mit den Nummern I—V versehen. Nach Feststellung des Chlorgehaltes wurden die Laugen sich selbst überlassen und 2×24 Stunden dem diffusen Tageslicht ausgesetzt. Die vorher und nachher erhaltenen Resultate sind in Tabelle I aufgezeichnet:

Tabelle I. Haltbarkeit der Bleichlaugen.

Probe No.	Stärke der Laugen	
	a) unmittelbar nach Verlassen des Elektrolyseurs	b) nach 2×24stündigem Stehen in farblosen, durchsichtigen Glasstöpselflaschen
I.	3,8 g Chlor in 1 Liter	—
II.	6,6 „ „ „ 1 „	6,4 g Chlor in 1 Liter
III.	7,2 „ „ „ 1 „	7,1 „ „ „ 1 „
IV.	7,2 „ „ „ 1 „	7,2 „ „ „ 1 „
V.	5,6 „ „ „ 1 „	5,2 „ „ „ 1 „

Aus diesen wiederholt bestätigten Beobachtungen geht hervor, daß trotz der Einwirkung des diffusen Tageslichtes während 2×24 Stunden nur eine minimale, für die Praxis kaum in Betracht kommende Abnahme des Chlorgehaltes eintritt.

Bei einigermaßen gleichmäßigem, gut geregelten Zu- und Abfluß sind die Differenzen in der Stärke nur sehr gering; bei den späteren Versuchen schwankte der Gehalt an aktivem Chlor bei Verwendung der gleichen Kochsalzlösung und Innehaltung der Temperaturen zwischen 35° und 40° allerhöchstens um 1 g.

Die Hypochloritlaugen sind stark alkalisch reagierende Flüssigkeiten; das rote Lackmuspapier wird selbst von sehr schwachen Lösungen sofort intensiv gebläut. Aber unmittelbar darauf — nach Ablauf von kaum 1 Sekunde — verschwindet die Blaufärbung und das eingetauchte Ende erhält einen rein weißen Farbenton, da der Lackmusfarbstoff binnen kürzester Frist von der Bleichlauge zerstört wird. Ebenso schnell verschwindet die beim Zusatz von Phenolphthaleïn auftretende Rotfärbung der Lauge, die sofort wieder ihr wasserhelles, kristallklares Aussehen annimmt.

In Anbetracht der außerordentlich schnellen Zerstörung dieser beiden Farbstoffe wurden noch eine Reihe ähnlicher Reagentien auf ihr Verhalten gegenüber den Elektrolytlaugen einer Prüfung unterzogen. Ueber die Einwirkung der Laugen auf die gebräuchlichsten Laboratoriumsfarbstoffe gibt die nachstehende Tabelle Auskunft.

Diese Versuche zeigen, daß selbst schwache Bleichlaugen mit einem Chlorgehalt von 0,1 g Prom. eine prompt entfärbende Wirkung auf Methylenblau, Säurefuchsin, Sudan III, Lithionkarmin und Lackmustinktur ausüben, während gegenüber Bacillenfuchsin, Gentianaviolett und Pikrinsäure auch die stärkeren Laugen von

Tabelle II. Verhalten der Bleichlaugen gegenüber Farbstoffen (entfärbende Wirkungen).

a) Gegenüber den gebräuchlichsten Laboratoriumsfarbstoffen.

Farblösungen	Stärke der Laugen		
	4 g Chlor in 1 l	1 g Chlor in 1 l	0,1 g Chlor in 1 l
Methylenblau-stammlösung	Nach 1—2 Min. völlig farblos und klar	Erst feinster hellblauer Schimmer; nach 2 bis 3 Min. völlig farblos und klar	Erst blaßblau; nach 3 Std. völlig entfärbt
Fuchsinstamm-lösung	Sofort hellorange, klar; bleibt so	Hellorange, etwas trübe; bleibt so	—
Gentianaviolett-stammlösung	Sofort schmutzig-hellgrau; bleibt so	Wird schmutzig-hellgrau	—
Pikrinsäurelösung (konzentr. wässerige)	Bleibt unverändert	Bleibt unverändert	—
Säurefuchsinlösung (1-proz.)	Sofort völlig entfärbt	Sofort völlig entfärbt	Sofort völlig entfärbt
van Gieson-Lösung	Wird sofort hellgelb; bleibt so	—	—
Sudan III-Lösung (kalt gesättigt in 80-proz. Alkohol)	Erst nur noch feinster rosa Schimmer; nach 3 Min. farblos und klar	Nach 5 Min. völlig farblos und klar	Erst feinster blaßrötlicher Schimmer; nach 3 Std. völlig entfärbt
Lithionkarmin-lösung (Orth)	Sofort völlig entfärbt	Sofort völlig entfärbt	Erst feinster gelber Schimmer; nach 2 Min. völlig farblos und klar
Lackmustinktur	—	Sofort völlig entfärbt	Sofort völlig entfärbt

4 g Chlorgehalt gar keinen oder höchstens einen minimalen Farbenumschlag hervorrufen.

Von besonderem Interesse ist der Einfluß der Bleichlaugen auf die spezifisch organischen Farbstoffe.

Ihr Verhalten gegenüber Gallenfarbstoff wurde in der Weise geprüft, daß je 10 ccm frischer Rindergalle mit Bleichlaugen verschiedenen Chlorgehalts versetzt wurden und dabei die Menge des Gallenfarbstoffs stets das gleiche Verhältnis zur Gesamtmenge der Mischung (1:4) hatte. Die im einzelnen hierbei erzielten entfärbenden Wirkungen sind in Tabelle IIb verzeichnet.

b) Gegenüber Gallenfarbstoff (Rindergalle). Ausgangsmaterial: dunkelolivgrün, klar.

Stärke der Lauge	Nach 10 Minuten	Nach 2 Stunden	Nach 24 Stunden	Vergleichsgemisch
4 g Chlor in 1 l	Hellgrau; feinste Trübung	Wasserhell; feinste Trübung	Wasserhell, klar; feinster grauer Bodensatz	10 ccm Galle, 40 ccm Aq. dest. Helloliv-grün, klar
2 g Chlor in 1 l	Zeisiggelb, klar	Hellgrau; feinste Trübung	Wasserhell, klar; feinster grauer Bodensatz	
1 g Chlor in 1 l	Zeisiggelb, klar	Zeisiggelb, klar	Hellgelb, klar	
0,1 g Chlor in 1 l	Helloliven, klar	Helloliven, klar	Helloliven, klar	

Bei einem Chlorgehalt von 2 g ist also nach 24-stündigem Verweilen eine völlige Entfärbung der dunkelolivgrünen Galle erreicht worden.

In der gleichen Weise wurden Versuche mit normalem Urin angestellt.

c) Gegenüber Urin. Ausgangsmaterial: hellgelb, klar.

Stärke der Lauge	Nach 10 Minuten	Nach 2 Stunden	Nach 24 Stunden	Vergleichsgemisch
4 g Chlor in 1 l	Wasserhell; Spur grauer Ton	Wasserhell; klar	Wasserhell; klar	10 ccm Urin, 40 ccm Aq. dest. hellgelb
1 g Chlor in 1 l	Wasserhell; Spur gelblichgrauer Ton	Wasserhell; Spur grauer Ton	Wasserhell; klar	
0,1 g Chlor in 1 l	Hellgelb	Hellgelb	Hellgelb	

Die im Urin enthaltenen Gallenfarbstoffe sind entsprechend ihrer geringeren Konzentration bereits bei einem Chlorgehalt von 1 g nach 24 Stunden vollständig zerstört worden.

Um den Einfluß der Bleichlaugen auf Blutfarbstoff zu ermitteln, wurde frischer, nach Abscheiden des Serums von je 3 ccm Blut gebildeter Blutkuchen in Kölbchen mit je 25 ccm Elektrolytlauge von verschiedenem Chlorgehalt hineingebracht. Die nach Ablauf bestimmter Zeitintervalle beobachteten Ergebnisse sind in Tabelle IIIa zusammengestellt.

Tabelle III. Einwirkung der Laugen auf Blut.

a) Auf den zu 25 ccm Lauge zugesetzten unzerkleinerten, frischen Blutkuchen von 3 ccm Blut.

Stärke der Lauge	Veränderungen des Blutkuchens oder der Lauge			
	Sofort	Nach 3 Stunden	Nach 6 Stunden	Nach 24 Stunden
5,0 g Chlor	Blutkuchen bekommt außen einen leicht schmutziggrauroten Ton. Lauge völlig farblos und klar	Blutkuchen an d. ganzen Oberfläche grau gefärbt. Lauge völlig farblos und klar	Blutkuchen mit deutlich hellgrauer transpar. Außenschicht, durch die der dunkelschwarzrote Kern durchschimmert. Lauge völlig farblos und klar	Keine Aenderung gegenüber dem Befund nach 6 Stunden
2,5 g Chlor	do.	do.	Die hellgraue transparente Beschaffenheit hat etwas geringere Ausdehnung als bei dem der 5 g-Lauge; sonst der gleiche Befund	do.
1,0 g Chlor	Blutkuchen unverändert. Lauge völlig farblos und klar	Blutkuchen unverändert. Lauge völlig farblos u. klar	Blutkuchen mit leichtem grauen Anflug. Lauge völlig farblos und klar	do.

Die Laugen üben somit nur auf den in den oberflächlichen Schichten des Blutkuchencylinders enthaltenen

Farbstoff eine entfärbende Wirkung aus. In den inneren Partieen der dichten zähen Eiweißmasse ist der dort lagernde Blutfarbstoff den Einwirkungen der Lauge entrückt. Die erzielte Oberflächenwirkung tritt bei der 5 g- und 2,5 g-Lauge unmittelbar nach dem Hineinbringen des Blutkuchens auf, während bei der schwächeren 1 g-Lauge erst nach 6 Stunden eine Einwirkung zu bemerken ist.

Um der Lauge eine größere Angriffsfläche zu bieten, wurde jeder einzelne Blutkuchen in möglichst kleine Teilchen zerquetscht und dabei folgendes festgestellt.

b) Auf den zerquetschten und zerkleinerten Blutkuchen.

Stärke der Lauge	Veränderungen des Blutkuchens oder der Lauge		
	Sofort	Nach 3 Stunden	Nach 24 Stunden
5,0 g Chlor	Diffuse Trübung u. Graufärbung der Lauge	Lauge schmutzig-grau, trüb. Die gröberen Teilchen des Blutkuchens haben graue Außenschicht und dunkel-schwarzroten Kern; die kleineren sind grau	Lauge und Blutkuchenteilchen wie nach 3 Stunden
2,5 g Chlor	do.	Lauge graurötlich, trüb. Die Teilchen des Blutkuchens zeigen feinen grauen Schimmer bei sonst dunkelschwarzrotem Aussehen	Lauge schmutzig-grau, trüb, mit rötlichem Schimmer. Die kleineren Blutkuchenteilchen rötlich-grau, die gröberen wie bei der 5 g-Lauge, doch ist die Graufärbung etwas schwächer
1,0 g Chlor	Lauge trüb und rötlich	Lauge schmutzig-graurot, trüb. Blutkuchenteilchen dunkelrot mit feinstem Grauschimmer	Lauge blaßrot, klar. Blutkuchenteilchen graurot

Die geringe Tiefenwirkung auf Eiweißmassen fällt hier ganz besonders auf. Selbst in der 5 g-Lauge ist keine vollständige Entfärbung zu stande gekommen; nur die feinsten Teilchen sind durch sie entfärbt, die größeren — etwa hirsekorngroßen — Partikel lassen noch einen dunkelschwarzroten Kern erkennen. In der 2,5 g-Lauge weisen sogar die kleinsten, eben noch sichtbaren Teilchen sowie die Lauge selbst einen deutlichen roten Farbenton auf. Die Wirkung der 1 g-Lauge ist geradezu als unbedeutend zu bezeichnen.

Um den Farbstoff möglichst isoliert und in feinster Verteilung zu erhalten, wurden 1 qcm große weiße Barchentläppchen gleichmäßig mit Blut getränkt. Zur Vermeidung von Gerinnselbildung wurden die Läppchen gut ausgepreßt und getrocknet. Darauf kamen sie in Kölbchen mit je 25 ccm Lauge verschiedenen Chlorgehalts. Die wahrgenommenen Veränderungen wurden registriert; da nach 48 Stunden die Resultate genau die gleichen waren wie nach 24 Stunden, so wurden die Läppchen aus den Laugen entfernt und mit kaltem, wiederholt gewechselten Wasser gründlich nachgespült. Ueber den Einfluß der Bleichlaugen sowie den der anschließenden Wasserspülung gibt Tabelle IIIc näheren Aufschluß.

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß gerade durch die 1 g-Lauge ein guter Bleicheffekt erzielt wird,

c) Auf blutgetränkte Barchentläppchen.

Stärke der Lauge	Nach 1 Stunde	Nach 24 Stunden	Nach 48 Stunden	Nach Auswaschen in kaltem Wasser
5,0 g Chlor	Das Läppchen schwimmt in der Lauge; es ist von einer dichten Schicht feinster Gasbläschen umgeben und sieht grau aus. Lauge farblos, klar	Läppchen schmutzig-grau, schwimmt. Lauge farblos, klar	Wie nach 24 Stunden	Läppchen schön weiß; nur die anhaftenden Blutgerinnsel sind schwärzlich-grau
4,0 g Chlor	do.	do.	do.	do.
3,0 g Chlor	do.	do.	do.	do.
2,0 g Chlor	do.	do.	do.	Leichter graurötlicher Schimmer
1,0 g Chlor	Das Läppchen schwimmt in der Lauge; durch die umgebenden Gasbläschen schimmert die schwarzrote Farbe des Läppchens durch. Lauge eine Spur gelblich, klar	Läppchen dunkelgraurot, schwimmt. Lauge farblos, klar	do.	Blutgerinnsel schmutzig-graurot, sonst Läppchen weiß
0,5 g Chlor	Läppchen graurötlich, schwimmt. Lauge gelblich, klar	Läppchen blaß-rötlich-grau, schwimmt. Lauge farblos, klar	do.	Läppchen fast durchweg weiß, nur in der Mitte eine Spur gelblich-rötlich
0,1 g Chlor	Läppchen blaßgraurot, schwimmt. Lauge rötlich-gelb, klar	Läppchen eine Spur rötlich, fast weiß. Lauge farblos, klar	do.	do.
Aqua dest.	Das Läppchen ist zu Boden gesunken; es ist schmutzig-graurot gefärbt. Wasser schmutzig-graurot, trübe	Läppchen schmutzig-rötlich-grau. Wasser ebenso	do.	Läppchen diffus rötlich

daß aber bei einem geringeren Chlorgehalt trotz nachträglicher Wasserspülung ein gleichmäßig verteilter Blutfarbstoff nicht mehr zerstört wird.

Das Gewebe der Läppchen war durch das längere Verweilen in den Bleichlaugen in keiner Weise angegriffen; auch die in den stärkeren Laugen gehaltenen Läppchen zeigten eine unverminderte Festigkeit ihres Gewebes.

Ein ganz wesentlich anderes Verhalten ist in dieser Hinsicht bei der Seidenfaser zu bemerken. Bringt man kurze Seidenfäden in Kölbchen mit Hypochloritlaugen verschiedener Konzentration, so treten folgende Veränderungen ein (s. Tabelle IV).

Die Tatsache, daß Seidenfäden innerhalb 24 Stunden noch von einer 1 g-Lauge vollständig aufgelöst werden, ist bei der Verwendung der Bleichlaugen in Rechnung zu ziehen.

Von wichtiger hygienischer Bedeutung ist das Verhalten der Lauge gegenüber faulenden organischen Substanzen, insbesondere gegenüber Abwässern. Bei den hierauf Bezug nehmenden Versuchen wurden zu genau abgemessenen Mengen der zu prüfenden Flüssigkeiten die Laugen in einem solchen Verhältnis zugesetzt, daß die resultierenden Gemische einen gleichmäßig sich abstufenden Chlor-

Tabelle IV. Einwirkung der Lauge auf Seidenfäden.

Chlorgehalt der Lauge	Nach 10 Minuten	Nach 2 Stunden	Nach 24 Stunden
5,0 g in 1 Liter	Fäden sind an den Enden etwas aufgefasert	Bis auf einige dünne Faserstränge aufgelöst	Bis auf einige feinste, mit bloßem Auge eben noch sichtbare Fäserchen aufgelöst
4,0 „ „ 1 „	do.	do.	do.
3,0 „ „ 1 „	do. (weniger als bei 5 und 4 g)	do.	do.
2,0 „ „ 1 „	do.	An den Enden stark aufgefasert	do.
1,0 „ „ 1 „	do.	do.	do.
0,5 „ „ 1 „	Unverändert	An den Enden etwas aufgefasert	An den Enden stark aufgefasert
0,2 „ „ 1 „	do.	do.	An den Enden etwas aufgefasert
0,1 „ „ 1 „	do.	do.	do.

gehalt aufwiesen. Nach Ablauf bestimmter, durch Vorversuche ermittelter Zeiträume wurden die eingetretenen Veränderungen festgestellt. Um einen Ueberblick über die relative Wirksamkeit der Laugen zu gewinnen, wurden jedesmal gleichzeitig entsprechende Gemische mit Lysol angesetzt und in derselben Weise beobachtet. Das Lysol erschien für die Vergleichszwecke besonders deswegen geeignet, da es von den bekannten und als sicher erprobten Desinfektionsmitteln gleichzeitig auch gute desodorierende Eigenschaften besitzt, von denen ja namentlich bei der Krankenpflege in kleineren Verhältnissen ein ausgiebiger Gebrauch gemacht wird.

Um ein möglichst intensiv riechendes Faulgemisch als Prüfungsobjekt für die desodorierenden Eigenschaften der Laugen zu erhalten, wurde der Urin eines Cystitikers mit der gleichen Menge Nährbouillon sowie mit etwas Saft von „reifem“ zerfließenden Harzer Käse versetzt und dieses Gemisch auf 2×24 Stunden dem Brutschrank bei 37° überlassen. Es gelang auf diese Weise, eine höchst widerwärtig stinkende Flüssigkeit zu erzielen. Die durch die Elektrolytlaugen und das Lysol hervorgerufenen Veränderungen sind in Tabelle Va wiedergegeben.

Tabelle V. Desodorierende Wirkung.

a) Auf ein 2×24 Stunden bei 37° angereichertes Faulgemisch von Cystitisurin, Nährbouillon und zerfließendem Käse. (Vergleich mit Lysol.)

Chlorgehalt des Gemisches	Nach 30 Minuten	Nach 12 Stunden	Nach 24 Stunden
2,0 g in 1 Liter	Reiner Chlorgeruch	Reiner Chlorgeruch	Reiner Chlorgeruch
1,0 „ „ 1 „	Chlorgeruch; Spur Fäulnis	Chlorgeruch; Spur Fäulnis	Chlorgeruch; leicht aromatisch
0,5 „ „ 1 „	Chlorgeruch; deutliche Fäulnis	do.	do.
0,2 „ „ 1 „	Stinkt	Riecht fast gar nicht	Leicht aromatisch
0,1 „ „ 1 „	do.	do.	do.

Lysolgehalt des Gemisches	Nach 30 Minuten	Nach 12 Stunden	Nach 24 Stunden
2,0 Proz.	Reiner Lysolgeruch	Reiner Lysolgeruch	Reiner Lysolgeruch
1,0 „	do.	do.	do.
0,5 „	Lysolgeruch; daneben Fäulnis	Lysolgeruch; daneben Fäulnis	Lysolgeruch; leicht aromatisch
0,2 „	Stinkt	Riecht fast gar nicht	Leicht aromatisch
0,1 „	do.	do.	Leicht säuerlich-ranzig

Es war somit schon nach Ablauf von $^1/_2$ Stunde bei einem Chlorgehalt 2 g Prom. des Lauge-Faulgemisches eine völlige Beseitigung des intensiven Gestankes erzielt, während nach 12-stündigem Stehen bereits bei einem Chlorgehalt von 0,1 g eine nahezu vollständige, für praktische Zwecke vollauf genügende Desodorisation zu konstatieren war. Bei Betrachtung der Tabellen ist weiterhin erkennbar, daß die Elektrolytlaugen bereits in entsprechend 10-fach schwächeren Lösungen die desodorierende Wirkung des Lysols zu entfalten vermögen.

Aehnlich günstig ist der desodorierende Effekt der Bleichlaugen gegenüber Abwässern. Zu diesen Versuchen wurden die Abwässer der Stadt Bromberg benutzt. Die aus dem Hauptzuleitungsrohr der Rieselfelder entnommene Probe wies den typischen Jauchegeruch auf, der indes bezüglich seiner Intensität bei weitem nicht den Grad erreichte wie das erstbenutzte Faulgemisch. Die Herstellung der einzelnen Verdünnungen geschah in derselben Weise wie bei der vorigen Versuchsreihe. Die Resultate gibt Tabelle Vb an.

b) Desodorierende Wirkung auf ungereinigte Abwässer von den Rieselfeldern. (Vergleich mit Lysol.)

Chlorgehalt des Gemisches	Nach 10 Minuten	Nach 1 Stunde	Nach 24 Stunden
2,0 g in 1 Liter	Chlorgeruch	Chlorgeruch	Chlorgeruch
1,0 „ „ 1 „	Chlorgeruch; leicht aromatisch	Fast reiner Chlorgeruch	Fast reiner Chlorgeruch
0,5 „ „ 1 „	Leicht aromatisch	Leicht aromatisch	Leicht aromatisch
0,2 „ „ 1 „	Etwas übelriechend	Etwas übelriechend	Etwas übelriechend
0,1 „ „ 1 „	Stinkt; doch weniger als Ausgangsmaterial	Stinkt; doch weniger als Ausgangsmaterial	Stinkt; doch weniger als Ausgangsmaterial

Lysolgehalt des Gemisches	Nach 10 Minuten	Nach 1 Stunde	Nach 24 Stunden
2,0 Proz.	Lysolgeruch	Lysolgeruch	Lysolgeruch
1,0 „	Lysolgeruch und leicht aromatisch	Reiner Lysolgeruch	Reiner Lysolgeruch
0,5 „	Leicht aromatisch	Leicht aromatisch	do.
0,2 „	Etwas übelriechend	Etwas übelriechend	Fast desodoriert
0,1 „	do.	do.	do.

Während bei der vorigen Faulflüssigkeit erst bei einem Chlorgehalt von 2 g eine völlige Geruchlosigkeit eingetreten war, war hier — ent-

sprechend der bei weitem geringeren Intensität des üblen Geruches — schon bei einem Gehalt von 1 g Chlor Promille nach 1 Stunde eine absolute Desodoration zustande gekommen. Trotzdem hatten bei dieser Versuchsreihe die Abwässergemische mit schwächerem Chlorgehalt (0,2 g und 0,1 g) selbst nach 24 Stunden noch nicht alle Spuren des Jauchegeruchs verloren; in dem viel penetranteren Faulgemisch der Tabelle Va waren noch bei 0,1 g Chlorgehalt nach 24 Stunden keine Spuren von üblen Geruch mehr bemerkbar gewesen. Bei den zum Vergleich mit Lysol angesetzten Gemischen liefen in den höheren Konzentrationen die Wirkungen des Lysols denen einer 10-fach schwächeren Lauge genau parallel; in den schwächeren Lösungen entfaltete dagegen diesmal das Lysol eine relativ intensivere Desodorationskraft als das entsprechende Laugengemisch.

Höchst auffällige Unterschiede wurden bei der Betrachtung der für die Desodorationsprüfung angesetzten Probiergefäße in der äußeren Beschaffenheit der Laugen- und der Lysolgemische wahrgenommen. Die mit Bleichlauge versetzten Abwässer boten nämlich nach 24 Stunden ein nahezu völlig wasserklares Aussehen dar; die suspendierten Stoffe hatten sich bei allen in der Kuppe des Reagenzglases angesammelt. Bei den Lysolgegemischen war dagegen nur eine ganz unbedeutende Sedimentierung, doch keine Klärwirkung zu verzeichnen. Die beobachteten Unterschiede sind in Tabelle VI gegenübergestellt.

Tabelle VI. Kläreffekt bei ungereinigten Abwässern von den Rieselfeldern.

Ausgangsmaterial: hellbräunlich, fast undurchsichtig, mit vielen feinsten schwimmenden Teilchen, Jauchegeruch. Dauer der Einwirkung: 24 Stunden. (Vergleich mit Lysol.)

Chlorgehalt der Abwässer	Lauge	Lysolgehalt der Abwässer	Lysol
2,0 g in 1 Liter	Röhrchen fast völlig wasserklar; nur feinste hauchige Trübung. Suspendierte Stoffe in der Kuppe des Reagenzglases	2 Proz.	In der fast durchsichtigen oberen Hälfte flockig getrübt; in der unteren Hälfte diffus getrübt. Geringer Bodensatz in der Kuppe
1,0 g in 1 Liter	do.	1 Proz.	Diffus getrübt. Geringer Bodensatz in der Kuppe
0,5 g in 1 Liter	do.	0,5 Proz.	do.
0,2 g in 1 Liter	do.	0,2 Proz.	In der oberen Hälfte feinste Trübung, in der unteren stärkere Trübung. Geringer Bodensatz in der Kuppe
0,1 g in 1 Liter	do.	0,1 Proz.	In den beiden oberen Dritteln feinste Trübung, im unteren Drittel stärkere Trübung. Geringer Bodensatz in der Kuppe

In Anbetracht dieser günstigen Wirkungen erschien es von Interesse, den Zeitpunkt ihres Eintrittes und ihren Verlauf etwas näher kennen zu lernen. Zu diesen Ermittelungen wurden in der gleichen Weise wie bisher Abwässerproben mit Elektrolytlaugen — sowie mit Lysol — in bestimmten Verhältnissen versetzt. Die für den Versuch benutzte, dem Hauptzuflußrohr der städtischen Pumpstation entnommene Jauche zeigte in ihrer äußeren Beschaffenheit, in Farbe, Durchsichtigkeit und Geruch, genau das gleiche Verhalten wie die vorige Probe. Tabelle VII bringt

eine Uebersicht über den beobachteten Kläreffekt sowie über den gleichzeitigen desodorierenden Einfluß der Bleichlaugen.

Tabelle VII. Versuche über die klärende und desodorierende Wirkung der Laugen auf städtische Kanaljauche.

Ausgangsmaterial: schmutzig-graubräunlich, undurchsichtig, mit vielen suspendierten Teilchen; typischer, fäkulenter Jauchegeruch. (Vergleich mit Lysol.)

Chlorgehalt des Gemisches	Nach Verlauf von	Beschaffenheit des Jauche-Lauge-Gemisches
2,0 g in 1 Liter	10 Minuten	Wasserhell, fast klar, feinste hauchige Trübung, minimaler Bodensatz; Chlorgeruch
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.
1,0 g in 1 Liter	10 Minuten	Wasserhell, mäßig trüb, minimaler Bodensatz; Chlorgeruch
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.
0,5 g in 1 Liter	10 Minuten	Hellgrau, getrübt, wenig durchsichtig, mäßiger Bodensatz; schwacher Chlorgeruch
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.
0,2 g in 1 Liter	10 Minuten	Schmutziggrau, durchscheinend; stärkerer Bodensatz; kein Chlorgeruch; kein Gestank
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	Mäßig trübe, fast durchsichtig; desodoriert
0,1 g in 1 Liter	10 Minuten	Graubräunlich, durchscheinend, starker Bodensatz; Geruch etwas brenzlich
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	Graubräunlich, durchsichtig, desodoriert
0,05 g in 1 Liter	10 Minuten	Graubräunlich, durchscheinend, starker Bodensatz; Geruch fäkulent
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	Graubräunlich, durchscheinend, starker Bodensatz; desodoriert

Lysolgehalt des Gemisches	Nach Verlauf von	Beschaffenheit des Jauche-Lysol-Gemisches
2 Proz.	10 Minuten	Graubräunlich, durchscheinend; geringer Bodensatz; Lysolgeruch
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.
1 Proz.	10 Minuten	Graubräunlich, durchscheinend; geringer Bodensatz; schwacher Lysolgeruch
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.
0,5 Proz.	10 Minuten	Graubräunlich, stark getrübt, etwas größerer Bodensatz; Lysolgeruch angedeutet
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.
0,2 Proz.	10 Minuten	Aussehen wie Röhrchen mit 0,5 Proz.; Geruch wie verbrannt
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.; sehr schwacher fäkulenter Geruch
0,1 Proz.	10 Minuten	Aussehen und Geruch wie bei 0,2 Proz.
	1 Stunde	do.
	24 Stunden	do.; Geruch leicht fäkulent

Sowohl bei den Versuchen in Tabelle VI wie in Tabelle VII zeigt sich ein prompt entfärbender Einfluß der Bleichlaugen auf Abwässer. Noch bei 0,2 g Chlorgehalt (bei Tabelle VI sogar noch bei 0,1 g) war der ursprüngliche bräunliche Farbenton vollständig verdrängt, erst bei einem Chlorgehalt von 0,1 g und 0,05 g war ein Einfluß der Lauge nicht mehr zu erkennen und die Gemische zeigten deutlich die typisch graubräunliche Färbung des Ausgangsmaterials. Trotzdem erreichte die klärende Wirkung der Laugen bei dieser 2. Versuchsreihe nicht denselben günstigen Grad wie in Tabelle VI. Der dort bei einem Chlorgehalt von 0,1 g nach 24 Stunden erzielte Effekt ist hier in der gleichen Promptheit nur in der 2 g-Lauge erzielt worden. Obwohl die Abwässerproben zu derselben Jahreszeit entnommen worden waren — beide Versuche wurden im Sommer bei gleichen Witterungsverhältnissen angestellt — war merkwürdigerweise keine Gleichheit in der Wirkung zu verzeichnen. Die chemische Untersuchung, die wohl sicherlich die Ursache dieser Verschiedenheit aufgeklärt haben würde, mußte leider aus äußeren Gründen unterbleiben.

Bei den in Tabelle VII verzeichneten Ergebnissen fällt wiederum besonders die bereits erwähnte günstige desodorierende Wirkung in die Augen: bei einem Chlorgehalt von 0,2 g Promille schon nach 10 Minuten keine Spur mehr von Fäulnisgeruch und nach 24-stündiger Einwirkung Desodoration selbst bei 0,05-prom. Chlorgehalt!

In den zum Vergleich mit Lysol versetzten Abwässern ward erst in 0,5-proz. Lösung eine völlige Desodoration erzielt.

Um zu prüfen, ob und in welcher Konzentration eine desinfizierende Wirkung von den Elektrolytlaugen ausgeübt wird, wurde in der gleichen Weise wie bisher eine Serie Abwässerproben mit Lauge, eine andere mit Lysol versetzt und sodann nach 10 Minuten, nach 1 Stunde und nach 24 Stunden von den einzelnen Verdünnungen je 0,1 ccm unter sterilen Kautelen entnommen und in Gelatineplatten gegossen. Die Platten wurden nach 3×24-stündigem Wachstum gezählt; die erhaltenen Keimzahlen sind in Tabelle VIIIa verzeichnet.

Tabelle VIII. Desinfizierende Wirkung.

a) Desinfizierende Wirkung auf die ungereinigten Abwässer von den Rieselfeldern. Aussaat: je 0,1 ccm von den verschiedenen Lauge-Abwässergemischen; Zählung der Gelatineplatten nach 72 Stunden. (Vergleich mit Lysol.)

Chlorgehalt des Gemisches	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 1 Std.	Aussaat nach 24 Std.	Lysolgehalt des Gemisches	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 1 Std	Aussaat nach 24 Std.
2,0 g in 1 Liter	0	0	0	2 Proz.	10	29	22
1,0 „ „ 1 „	0	10	3	1 „	21	35	14
0,5 „ „ 1 „	234	1600	∞	0,5 „	19	27	11
0,2 „ „ 1 „	∞	∞	∞	0,2 „	39	—	16
0,1 „ „ 1 „	∞	∞	∞	0,1 „	704	∞	320

In der für die eben angeführten Versuche benutzten Abwässerprobe war somit bei einem Chlorgehalt von 2 g Promille schon nach 10 Minuten eine völlige Abtötung aller durch die Gelatineplatte nachweisbarer Keime zustande gekommen, während von dem 2-proz. Lysolgemisch trotz 24-stündiger Einwirkung noch 22 Keime in 0,1 ccm auf den Gelatineplatten gewachsen waren. Zur Ermittelung

des Prozentgehaltes, bei welchem durch das Lysol eine Abtötung sämtlicher Abwässerkeime erfolgt, wurde eine neue Versuchsreihe angesetzt, wobei vor allem die höheren Konzentrationen der Lauge wie des Lysols einer näheren Prüfung unterzogen wurden.

b) Desinfizierende Wirkung auf städtische Kanaljauche. Aussaat wie bei voriger Tabelle. (Vergleich mit Lysol.)

Chlorgehalt des Gemisches	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 4 Std.	Aussaat nach 24 Std.	Lysolgehalt des Gemisches	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 4 Std.	Aussaat nach 24 Std.
5,0 g in 1 Liter	1	16	0	5 Proz.	0	0	—
4,0 „ „ 1 „	2	2	0	4 „	0	0	—
3,0 „ „ 1 „	3	2	0	3 „	1	2	0
2,0 „ „ 1 „	2	18	0	2 „	7	7	0
1,0 „ „ 1 „	∞	5	1	1 „	22	—	—

Die Abwässer, die diesmal zur Verwendung gelangt waren, hatten resistentere Keime enthalten als die vorige Probe, denn es waren in den Laugegemischen — auch bei 5 Prom. Chlorgehalt — durchweg 24 Stunden erforderlich, um eine völlige Keimfreiheit zu erzielen. In den Lysol-Abwässergemischen war dagegen bei 4-proz. Lysolgehalt bereits nach 10 Minuten die Abtötung sämtlicher Keime erreicht.

In den beiden letzten Versuchsreihen (Tabelle VIII a und VIII b) waren die zur Aussaat benutzten 0,1 ccm jedesmal aus den oberflächlichen Schichten der einzelnen Lauge-Abwässer- und Lysol-Abwässergemische entnommen worden. Mit Rücksicht auf den beobachteten günstigen klärenden und sedimentierenden Einfluß der Laugen, der schon nach 10 Minuten, in ganz besonders starkem Maße aber nach 24-stündigem Stehen der Gemische eine Ansammlung der suspendierten Stoffe am Boden der Gläser zur Folge hatte (cf. Tabelle VII), war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß durch die schnell vor sich gehende Sedimentierung entwickelungsfähige Keime mitgerissen werden und sich im Bodensatz anhäufen, und es drängte sich die Frage auf, ob nicht vielleicht bei dieser Art der Entnahme die erhaltenen Keimzahlen ein falsches Bild von den Wirkungen der Laugen vortäuschten. Um dieser vermeintlichen Fehlerquelle zu entgehen, wurden bei einer neuen Versuchsreihe nach 24-stündigem Stehen zunächst 0,1 ccm wie bisher von der Oberfläche entnommen und in Gelatineplatten ausgegossen; unmittelbar darauf wurden sämtliche Laugengemische kräftig umgeschüttelt und nach gleichmäßiger Verteilung des Bodensatzes wurden abermals 0,1 ccm entnommen und ausgesät.

c) Desinfizierende Wirkung auf städtische Kanaljauche. Aussaat wie bei voriger Tabelle. (Vergleich mit Lysol.)

Chlorgehalt des Gemisches	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 1 Std.	Aussaat nach 24 Std.	Aussaat nach 24 Std. nach gründlichem Umschütteln des Bodensatzes	Lysolgehalt des Gemisches	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 1 Std.	Aussaat nach 24 Std.
2,0 g in 1 Lit.	1	2	2	1	2 Proz.	13	13	0
1,0 „ „ 1 „	0	1	6	6	1 „	30	41	0
0,5 „ „ 1 „	13	5	2	4	0,5 „	387	46	7
0,2 „ „ 1 „	24	—	3	10	0,2 „	∞	—	∞
0,1 „ „ 1 „	370	25	8	∞	0,1 „	∞	∞	∞
0,05 „ „ 1 „	∞	—	∞	∞	—	—	—	—

Aus diesen Ergebnissen ist ersichtlich, daß trotz des Aufrührens des Bodensatzes der Keimgehalt in den Lauge-Abwässergemischen mit 2 und 1 g Promille Chlorgehalt unverändert bleibt, daß aber bei 0,5 und 0,2 g ein ganz leichtes Ansteigen der Keimzahlen beginnt. Auffallend groß wird der Unterschied der Keimzahlen bei den von dem 0,1 g-Gemisch vor und nach dem Umschütteln angelegten Aussaaten: Die nach 10 Minuten langer Einwirkung der Lauge ermittelte Keimzahl von 370 Keimen war nach 1 Stunde auf 25 Keime und nach 24 Stunden auf 8 Keime herabgegangen, war jedoch nach dem Umschütteln sogar noch erheblich größer als bei der nach 10 Minuten entnommenen Probe[1]). Es ist deutlich zu erkennen, daß innerhalb 24 Stunden in dieser Verdünnung lediglich eine Sedimentierung aber keine bemerkenswerte Abtötung der Keime zustande gekommen ist. Eine praktische Verwertung der Bleichlaugen würde dieser Erscheinung Rechnung zu tragen haben; den Abwässern müßte deshalb eine solche Menge Bleichlauge zugefügt werden, daß in dem Gemische ein Chlorgehalt von etwa 1 g Promille vorhanden ist, falls nicht etwa durch andere Versuche eine gesonderte Weiterbehandlung des Bodensatzes als zweckmäßiger erwiesen wird.

Die Einwirkung der Laugen auf spezifisch pathogene Mikroorganismen wurde zunächst an Reinkulturen von Typhusbacillen näher erprobt, da die lebhafte Beweglichkeit dieser Bakterien zweifellos am besten geeignet ist, einen schnellen und gut orientierenden Ueberblick über den Einfluß eines Desinfektionsmittels zu gewähren. Zu je 10 ccm 18—24-stündiger Bouillonkulturen von frischen Typhusstämmen, die sich durch starke Beweglichkeit auszeichneten, wurden genau abgemessene Mengen einer frisch bereiteten und vorher titrierten Elektrolytlauge hinzugefügt. Sofort nach der Vermischung mit der Lauge wurde die Beweglichkeit der Bakterien im hängenden Tropfen geprüft und nach Ablauf von je einer Viertelstunde wurden von den verschiedenen Gemischen Aussaaten auf Drigalski-Nährboden gemacht, der wie sämtliche im Laboratorium benutzten Nährsubstrate aus bestem fett- und sehnenfreien Rindfleisch hergestellt war. Nach 24-stündiger Einwirkung der Laugen wurde abermals im hängenden Tropfen untersucht und darauf wurden wiederum Aussaaten auf Drigalski-Platten gemacht. Zur Aussaat wurden, wie auch bei den früheren Versuchen, jedesmal 0,1 ccm des Lauge-Bouillongemisches benutzt. Die bei den mikroskopischen Betrachtungen und bei den Aussaaten erhaltenen Resultate finden sich auf Tabelle IX.

Es ergibt sich hieraus, daß bei einem Chlorgehalt der Bouillonkultur von 0,24 g Prom. bereits nach 15 Minuten die sichere Abtötung aller Typhuskeime erzielt wurde.

Bei sämtlichen schwächeren Lösungen (0,18—0,14—0,1 und 0,025 g Prom.) war dagegen auf den Drigalski-Platten ein derartig reichliches Wachstum zu verzeichnen, daß — wenigstens nach oberflächlicher Schätzung — von einer desinfizierenden Wirkung nicht mehr die Rede sein kann.

---

1) Die unliebsame Konkurrenz der zahlreichen in den Abwässern enthaltenen Fäulniskeime machte bei reichlichem Wachstum eine einigermaßen genaue Keimzählung unmöglich. Da es sich nicht empfahl, mit Verdünnungen zu arbeiten oder sich mit der Aussaat von Oesen zu begnügen, so wurde in allen Fällen, in denen die Platten über und über mit Keimen besät waren, auf eine zahlenmäßige Angabe verzichtet und in den Tabellen die Bezeichnung ∞ angewandt.

Tabelle IX. Einwirkung der Laugen auf Typhusbacillen.
(24-stündige Bouillonkulturen zu je 10 ccm.)

Chlorgehalt des Röhrchens	Sofortige Prüfung im hängenden Tropfen	Aussaaten nach 15 Min.	Prüfung im hängenden Tropfen nach 24 Std.	Aussaaten nach 24 Std.
1,7 g Prom.	Nur molekulares Zittern; nirgends Vorwärtsschreiten	—	Nur molekulares Zittern; kein Vorwärtsschreiten. Die Bacillen liegen vielfach zusammengeballt und völlig unbeweglich	Steril
0,5 g Prom.	Wie voriges	Steril	Nur molekulares Zittern; nirgends Vorwärtsschreiten	Steril
0,24 g Prom.	Fast überall nur molekulares Zittern; ganz vereinzelt „wirbelnde" Bewegungen	Steril	—	Steril
0,18 g Prom.	—	Dicht besät mit Ty-B.	—	—
0,14 g Prom.	—	Dicht besät mit Ty-B.	—	—
0,1 g Prom.	—	Dicht besät mit Ty-B.	—	—
0,025 g Prom.	Beweglichkeit vielfach deutlich eingeschränkt, doch bei der großen Mehrzahl ungemindert vorhanden	Dicht besät mit Ty-B.	—	Dicht besät mit Ty-B.

Der überaus günstige keimtötende Einfluß der Bleichlaugen gegenüber Typhusbacillen entspricht durchaus den bei den Abwässerdesinfektionsversuchen gewonnenen Resultaten (cf. Tab. VIII a, b, c). Wenn man berücksichtigt, daß dort bei einem Chlorgehalt von 2 g und 1 g Prom. eine Abtötung aller in der Kanaljauche enthaltenen, fast durchweg wohl ganz erheblich widerstandsfähigeren Keime zu beobachten war, so kann es nicht weiter auffallen, daß hier bereits der 8. Teil des Chlorgehaltes hinreichte, um bei den viel weniger resistenten Typhusbacillen den gleichen Erfolg hervorzurufen.

Die Leistungsfähigkeit der Elektrolytlaugen gegenüber den vegetativen Bakterienformen von einer anerkannt hohen Widerstandskraft wurde an Staphylococcus pyogenes aureus geprüft. 10 ccm 24-stündiger Bouillonkultur eines Laboratoriumsstammes wurden mit 2,5 ccm einer 5 g-Bleichlauge versetzt, so daß der Chlorgehalt des Gemisches 1 g Prom. betrug. Nach 15 Minuten langer Einwirkung wurden je 0,1 ccm von der Kultur auf mehrere Loeffler-Serumplatten ausgesät. Das Ergebnis der Aussaaten war, daß sämtliche Platten steril blieben. Zur Gegenprobe wurde nunmehr eine Versuchsreihe mit Laugen von 5,0—4,0—3,0—2,0—1,0—0,5—0,2—0,1 g Chlorgehalt und einem von Král bezogenen Aureus-Stamm angesetzt, wobei als Vergleichsdesinficiens Sublimat in Lösungen von 1—0,5 Proz., 1—0,5—0,2—0,1 Prom. zur Anwendung gelangte. Als Resultat wurde festgestellt: Sämtliche nach 15 Minuten von den verschiedenen Bleichlaugen- und Sublimatlösungen angelegten Aussaaten bleiben steril; die Staphylokokken waren also bereits nach 15 Minuten in gleich vollkom-

mener Weise von der 0,1-prom. Sublimatlösung wie von der 0,1 g-Bleichlauge abgetötet worden.

Es wurde zunächst dahingestellt gelassen, ob dieser prompte Desinfektionstiter in demselben Maße für alle Staphylokokken gilt oder nicht, da es nach den vorangegangenen auffallend günstigen Beobachtungen von besonderer Wichtigkeit erschien, den Einfluß der Elektrolytlaugen auf sporenbildende Formen kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurden an Leinenfänden angetrockente Milzbrandsporen benutzt; Seide ist hierfür unbrauchbar, da sie — wie aus Tabelle IV ersichtlich — durch die stärkeren Laugen zerstört wird. Von diesen Fäden wurden größere Partieen in Kölbchen mit Laugen von verschiedenem Chlorgehalt, andere zur Kontrolle zu gleicher Zeit in Sublimatlösungen verschiedener Konzentration übertragen. Nach einer Einwirkung von 10 Minuten, 2 Stunden, 24 Stunden wurde eine gleich große Anzahl Fäden den einzelnen Kölbchen entnommen, in steriler Bouillon abgespült und sodann auf frisch bereiteten Agar und Bouillon übertragen. Nachdem die Fäden unter den üblichen Kautelen dem Auskeimen überlassen worden waren, ergab sich das in Tabelle X verzeichnete Endresultat.

Tabelle X. Einwirkung der Laugen auf Milzbrandsporen.
+ = Wachstum; ++ = reichliches Wachstum; — = kein Wachstum.

Stärke der Lauge	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 2 Std.	Aussaat nach 24 Std.
5,0 g Cl Prom.	++	+	—
4,0 " " "	++	+	—
3,0 " " "	++	—	—
2,0 " " "	++	—	—
1,0 " " "	++	—	—
0,5 " " "	++	—	—
0,2 " " "	++	++	++
0,1 " " "	++	++	++

Vergleich mit Sublimat.

Stärke der Sublimatlösung	Aussaat nach 10 Min.	Aussaat nach 2 Std.	Aussaat nach 24 Std.
1 Proz.	+	—	—
0,5 "	++	—	—
1 Prom.	++	—	—
0,5 "	++	—	—
0,2 "	++	+	—
0,1 "	++	++	—

Es war somit nach 24-stündiger Einwirkung einer Bleichlauge von 0,5 g Chlorgehalt Promille eine vollständige Abtötung der Milzbrandsporen zu stande gekommen. Der gleiche Effekt war durch eine 0,5-prom. Sublimatlösung bereits nach 2-stündiger Dauer hervorgerufen, während bei den Bleichlaugen selbst ein Chlorgehalt von 5,0 g in dieser Frist noch nicht ausgereicht hatte, um sämtliche Sporen zu vernichten.

Genau das gleiche Resultat wurde mit einem anderen Milzbrandstamm erzielt, der auch Sublimat gegenüber das gleiche Verhalten zeigte.

Auffallend ist die anscheinend intensivere Wirkung der 3—2—1 g-Lauge nach 2-stündiger Einwirkung, die übrigens auch bei dem zweiten Stamm in ähnlichem Umfange beobachtet wurde.

Zu welchen praktischen Schlußfolgerungen berechtigen nun die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen?

Die bleichenden Eigenschaften der Hypochloritlaugen, die bei einzelnen künstlich hergestellten Farbstoffen besonders sinnfällig hervortraten, erweisen sich auch von einer prompten Wirkung gegenüber den aus dem Organismus stammenden Farbstoffen.

In vorteilhafter Weise macht sich dieser Einfluß bei Abwässern geltend, in denen selbst bei Anwesenheit geringer Mengen von aktivem Chlor ein bemerkenswerter Bleicheffekt erreicht wird. Die entfärbende Wirkung der Bleichlaugen findet dadurch eine Unterstützung, daß — wie die Versuche mit den Seidenfäden gezeigt haben — die Laugen im stande sind, gewisse organische Substanzen tierischer Herkunft vollständig aufzulösen. Der Erfolg dieser kombinierten Wirkung war bei den Resultaten der verschiedenen Klärversuche deutlich wahrnehmbar.

Von großem praktischen Interesse ist fernerhin das ausgezeichnete Desodorationsvermögen der Laugen, das selbst bei höchst intensiv stinkenden Gemischen nicht versagte.

Die eben erwähnten Eigenschaften legen es nahe, die Verwertung der Elektrolytlaugen für die Reinigung von Abwässern zu befürworten; diese letztere würde sich namentlich überall da empfehlen, wo übelriechende, an faulenden Substanzen reiche Abwässer von Betrieben produziert werden, die aus irgend welchen Gründen nicht an eine Kanalisationsanlage angeschlossen sind und denen eine Reinigung ihrer Abwässer auferlegt ist. Einem Hineinlassen der mit der Lauge versetzten Abwässer in öffentliche Vorfluter dürften Bedenken nicht entgegenstehen, da das Natriumhypochlorit das Bestreben hat, unter Abgabe seines O-Moleküls wieder in NaCl überzugehen und somit erhebliche Schädigungen von Lebewesen kaum zu befürchten sind.

Aber auch in solchen Fällen, in denen eine Desinfektion der Abwässer in Frage kommt, würden die Elektrolytlaugen mit Erfolg zu verwenden sein. Die Leichtigkeit und Billigkeit ihrer Herstellung, daneben die Einfachheit bei Ausführung der Desinfektion sowie der nicht hoch genug anzuschlagende Vorteil ihrer Beständigkeit gegenüber dem Licht bietet im Vergleich zum Chlorkalk eine Reihe gewichtiger Vorzüge.

Die Hypochloritlaugen werden trotz ihrer überaus wertvollen Eigenschaften, wie es scheint, bis heute in der Praxis nur in einem verhältnismäßig beschränkten Umfange benutzt. Im Großbetrieb erfolgt ihre Verwendung fast ausschließlich zu industriellen Bleichzwecken und nur ein kleiner Teil der im Gebrauch befindlichen Apparate dient der Reinigung der Wäsche als Ersatz der Chlorkalkbleiche. Und doch, wenn man die günstigen Resultate berücksichtigt, die mit den an pathogenen Keimen angestellten Versuchen erzielt wurden, ergibt es sich als das nächstliegende und zweckmäßigste, durch die Anwendung der Elektrolytlaugen eine Kombination von Bleichprozeß und Desinfektion anzustreben. Da in Dampfwaschanstalten die Wäsche zu Bleichzwecken erst dann der Behandlung mit der desinfizierenden Elektrolytlauge unterworfen wird, nachdem sie vorher durch energisches Kochen mit Soda- oder Seifenlaugen gereinigt wurde, so ist anzunehmen, daß auf diese Weise auch die resistentesten Krankheitserreger mit Sicherheit abgetötet werden. Bei der erwiesenen

Schonung der Wäsche durch die Elektrolytlaugen steht jedoch nichts im Wege, im Bedarfsfalle bereits die ungereinigte Wäsche durch Einweichen und längeres Liegenlassen dem desinfizierenden Einfluß der Elektrolytlaugen zu unterwerfen und sodann den eigentlichen Reinigungsprozeß anzuschließen. Dieses Verfahren wäre insbesondere den Krankenanstalten zu empfehlen, in denen die Reinigung von Laboratoriumswäsche und sonstiger infizierter Wäsche eine große Rolle spielt. Die minimalen Kosten der hierfür benötigten 0,5—1 g-Bleichlauge und die Einfachheit ihrer Herstellung sind dabei von einer nicht zu unterschätzenden Bedeutung. Auf Grund der experimentell gewonnenen Ergebnisse ist jedenfalls der Schluß berechtigt, daß die Hypochloritlaugen auch bei einer Verwertung im größeren Maßstabe ihre mannigfachen Vorzüge entsprechend zur Geltung bringen werden.

Ueber eine einfache Methode zur aërobischen Kultivierung der Anaëroben, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Toxinproduktion.

Von Dr. **S. Hata,**
Abteilungsvorsteher im Kaiserl. Japan. Institut für Infektionskrankheiten zu Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).

Es ist seit langem bekannt, daß die Anaëroben, wenn sie sich mit Aëroben zusammenfinden, in der Außenwelt auch unter Luftzutritt zur Entwickelung kommen können. Nach Pasteur sollen die Aëroben bei der Symbiose, durch ihr enzymartiges Produkt, auf das Wachstum der Anaëroben begünstigend wirken. Tatsächlich gelang es Novy, Anaëroben durch Symbiose mit Aëroben unter Luftzutritt auf künstlichem Nährboden zu kultivieren. Auch Kedrowsky (1) konnte eine Anaërobe auf einem Nährboden, auf welchem sich eine Aërobe einmal kräftig entwickelt hatte und dann abgetötet worden war, aërobisch kultivieren. Er erklärte dies dadurch, daß eine von der Aërobe produzierte lösliche Substanz, seiner Ansicht nach eine Art Enzym, die Entwickelung der Anaërobe befördert. Diese Annahme hat aber keine Stütze gegenüber dem richtigen Einwand Oettingens (2), daß der Autor den Schluß gezogen hatte, ohne eine weitere Analyse der Substanz auszuführen.

Schon Hesse (3) hat klargelegt, daß Aëroben bei ihrer Entwickelung große Mengen Sauerstoff verbrauchen. Hiervon ausgehend, hat Scholtz (4) den Kedrowskyschen Versuch wiederholt und ist zu dem Schluß gekommen, daß die Anaërobe nicht durch die enzymatische Wirkung der Aëroben, sondern durch die Erschöpfung des Sauerstoffs und die reduzierende Substanz, welche beide das Wachstum der Aërobe hervorruft, zur Entwickelung gebracht wird.

Durch Zusatz von reduzierender Substanz zum Nährboden die Entwickelung der Anaëroben zu fördern, wurde schon von Kitasato und Weyl (5) unternommen. Sie haben mit Brenzkatechin, Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol, ameisensaurem Natron und anderen Versuche angestellt. Dabei gelang es ihnen zwar nicht, die Anaëroben aërobisch zu

kultivieren, aber sie erkannten ameisensaures Natron, Indigosulfosaures Natron und Traubenzucker als geeignete Zusatzmittel zum anaërobischen Nährboden. Erst Trenkmann (6) gelang es, Anaëroben aërobisch zu kultivieren, indem er als Zusatzmittel Schwefelwasserstoff oder Schwefelnatron verwandte, weshalb er zu dem Schluß kam, daß die reduzierende Substanz in den Scholtzschen Versuchen derartige Schwefelverbindungen seien. Ein noch besseres Mittel fand Hammerl (7) im Schwefelammon.

Bei den Versuchen der letztgenannten Autoren gelang die Kultivierung leicht in flüssigen Medien, welchen Schwefelverbindung zugesetzt wurde, aber schwer auf festem Nährboden, wie Agar, Gelatine, wenn ihnen auch dieselben Chemikalien zugesetzt wurden. In diesem Fall bedarf es noch eines anderen sauerstoffbindenden Mittels, um den auf dem Nährboden sich findenden Sauerstoff zu resorbieren. Nach Hammerl läßt man Wasser sterilerweise Schwefelwasserstoff- und Ammoniakgas resorbieren und setzt dann dieses Wasser einer sterilen Bouillon zu. Obwohl dies ein wenig komplizierte Verfahren für praktische Zwecke sehr wenig brauchbar ist, so ist es doch ein unverkennbares Verdienst der beiden Autoren, den ersten Beweis erbracht zu haben, daß die Anaëroben unter der reduzierenden Wirkung eines Mittels, dessen chemische Natur ganz klar ist, auch aërobisch kultiviert werden können.

Vor 2 Jahren gab Tarozzi (8) eine einfache Methode zur leichteren Kultivierung von Anaëroben unter Luftzutritt an, indem er Stücke von frisch aus Meerschweinchen, Kaninchen oder Mäusen steril entnommenen tierischen Organen oder Geweben in gewöhnliche Bouillon legte. In dieser Bouillon wuchsen Tetanus-, Pseudotetanus- und Rauschbrandbacillen unter Luftzutritt sehr gut. Für diese Versuche eigneten sich am besten parenchymatöse Organe, wie Leber, Milz und Niere, dann Lymphdrüsen und Muskel, während das Bindegewebe wenig brauchbar war. Tarozzi legte ein 1 ccm großes Stück solcher Organe in ein Bouillonröhrchen und stellte das Röhrchen 1—2 Tage lang in einen Brutschrank von 37°, um seine Sterilität zu kontrollieren. Diese Nährbouillon war nach einigen Tagen noch brauchbar, verlor aber mit der Zeit von ihrer Nutzbarkeit. Organstücke enthaltende Bouillon war noch nach Kochen während 2 bis 3 Minuten, aber nicht mehr nach solchem von 5 Minuten oder längerer Zeit brauchbar. Ebenso brauchbar war eine Bouillon, in welche Organstücke einige Stunden lang eingetaucht, dann aber wieder herausgenommen wurden. Daher hat Tarozzi angenommen, daß sich im Organ eine wasserlösliche und hitzeunbeständige Substanz vorfände, welche die Anaëroben bei Luftzutritt zur Entwickelung brächte. Ueber das Wesen und die Wirkungsweise der fraglichen Substanz sagt er nichts. Auch bezüglich der Thermolabilität der Substanz ist seine Angabe keine bestimmte, weil er auch in einer Bouillon, welche nach der üblichen Methode verabreicht, aber von den koagulierten Eiweißflocken nicht befreit, d. h. nicht filtriert war, Anaëroben in der Luft züchten konnte.

Tarozzis Methode wurde später von Wrzosek (9) wiederholt und deren Ergebnisse als vollauf richtig bestätigt. Aber die Tatsache, daß Anaëroben in Organstücke enthaltenden Nährflüssigkeiten auch unter Luftzutritt wachsen, wurde schon im Jahre 1893 von Smith (10) bemerkt und 1899 als Kulturmethode angewandt. Außerdem hat er auch Milch zu demselben Zweck verwandt.

Ganz kürzlich hat Wrzosek (11) wieder mitgeteilt, daß auch pflanzliches Gewebe für denselben Zweck tauglich sei, und zwar seien Kar-

toffeln am geeignetsten. Er kochte eine Kartoffelstücke enthaltende Bouillon 15 Minuten lang in einem Antoklaven bei 120°. Der bei so hoher Temperatur gekochte Nährboden war nicht nur noch brauchbar, sondern das Wachstum der Anaërobe war auch viel lebhafter in diesem Nährboden als im nicht gekochten Kontrollröhrchen. Nach seinen Untersuchungen soll auch tierisches Gewebe selbst nach Kochen bei 120° noch brauchbar sein. Er fand auch solche Bouillon für tauglich, welche man mit einem tierischen oder pflanzlichen Gewebestück zusammen gekocht hatte, und der dann das Stück entnommen wurde. Daher meinte er, die in Frage kommende Substanz, welche sich im Gewebe vorfindet, sei zwar im Wasser löslich, aber nicht zerstörbar durch Hitze, wie Tarozzi behauptet hatte.

Eigene Versuche.

Ich unternahm es, den Mechanismus von Smith-Tarozzis Methode zu erforschen und wenn möglich zu vereinfachen, und zwar mit besonderer Berücksichtigung der Toxinproduktion der Anaëroben bei der aërobischen Züchtungsmethode.

1. Versuche bezüglich der Kulturmethode.

a) Smith-Tarozzis Organbouillon.

Frisch von Kaninchen, Meerschweinchen, Rind, Pferd steril genommene Organ- oder Gewebestücke wurden in Bouillon eingelegt und 2 Tage lang in den Brutschrank gestellt. Nach 2 Tagen zeigte sich ein Teil der Bouillonröhrchen steril, während in anderen mehr oder minder deutliches Bakterienwachstum bemerkbar war.

In die sterilen Röhrchen wurde Tetanus-, Malignes-Oedem- und Rauschbrandbacillus geimpft. In Leberbouillon wuchsen diese Bacillen am stärksten, und zwar bemerkte ich schon am folgenden Tage Trübung der ganzen Flüssigkeit mit lebhafter Gasentwickelung, wobei das Stück infolge der darin sich bildenden Gase emporstieg. Der Befund der Kultur in Milzbouillon war ungefähr gleich dem der Leberbouillon, während es in Milzbouillon besonders bemerkbar war, daß die Nährflüssigkeit mit dem Wachstum der Anaëroben sich ganz dunkelschwarz verfärbte. Nach dem Grade der Bakterienentwickelung folgten Nieren-, Gehirn-, Rückenmark-, Herz-, Blutkuchen-, Lungen-, Muskelbouillon, wobei die Tierarten, denen die Stücke entstammten, gleichgültig waren.

Inzwischen bemerkte ich eine unangenehme Seite der Methode, ich fand nämlich einige Kulturen verunreinigt. Da tierische Organe, wenn sie auch unter sterilen Kautelen ausgenommen sind, nicht selten a priori in ihrem normalen Zustande Bakterien, besonders Sporen, enthalten, ist es natürlich nötig, den Nährboden vor dem Gebrauche in einen Brutschrank zu bringen, wie ich es gemacht hatte. Zur Feststellung der Sterilität genügt 2-tägige Bebrütung aber nicht, weil zuweilen die Zahl der Sporen so gering ist und ihre Entwickelung so langsam vor sich geht, daß sie nicht nach 2 Tagen, sondern erst nach 4 Tagen zu einer wahrnehmbaren Entwickelung gelangen. Man muß daher, um sicher zu gehen, den Nährboden wenigstens 4 Tage im Brutschrank lassen. Dadurch verliert er aber nicht wenig an Nährkraft. Folgendes Verfahren wandte ich an, um diesen Nachteil der frischen Organe zu beseitigen:

1) 1 Stunde lang auf 60° erwärmte Organbouillon hatte ungefähr gleiche Nährkraft wie eine frische, war aber nicht sicher steril. Wenn

Organbouillon 1 Stunde bei 100° oder 20 Minuten bei 110° gekocht wurde, war sie sicher steril, verlor aber sehr deutlich an Nährwert. Von den so gekochten Bouillons wuchsen nur in Milzbouillon die geimpften Anaëroben am folgenden Tage, in allen mit anderen Organstückchen versehenen Bouillons erst nach 3 Tagen und dann auch nur spärlich.

Wie oben angeführt, soll in Wrzoseks Versuch die Verwendungsfähigkeit des Nährbodens durch Kochen selbst bei 120° nicht beträchtlich vermindert worden sein. Unsere Versuche haben jedoch gezeigt, daß schon bei einer Erwärmung von 60° der Nährwert etwas hinter dem der frischen Organbouillon zurückbleibt.

2) Die Bouillon, in welche man Organstücke 2—3 Stunden lang eingetaucht und dann herausgenommen hatte, war meistenteils steril, blieb aber allerdings an Nährwert hinter der organenthaltenden Bouillon weit zurück.

Mein Versuch, eine Organbouillon zu erhalten, die sicher steril und gleichzeitig von hohem Nährwert war, ging nicht in Erfüllung.

Warum kommen in Organbouillon die Anaëroben bei Luftzutritt zum Wachstum? Tarozzi schreibt das einer in den Organen sich vorfindenden wasserlöslichen und thermolabilen Substanz zu, die jedoch nach Wrzoseks Versuchsergebnis einer Temperatur von 120° stand hielt, und bei meinen Untersuchungen durch 110° noch nicht ganz zerstört wurde. Jedenfalls ist die Wirkungsweise dieser Substanz noch ganz unklar.

Bevor ich dieser Frage näher trete, ist noch ein anderes Moment zu berücksichtigen.

Sobald ein Stück Organ in Bouillon gelegt wird, löst sich ein Teil der Organzellen vom Stück los, und diese Zellen zerfallen durch Autolyse zu feinen Trümmerchen. Dieser Vorgang ist besonders bei parenchymatösen Organen, wie Leber, Milz, bemerkbar. Daher ist die Bouillon schon einigermaßen getrübt, auch wenn das Stück nach 2—3-stündigem Einlegen wieder herausgenommen wird. Obgleich nun in solcher getrübten Bouillon die Anaëroben in der Luft wachsen, so kann man doch noch nicht mit Recht sagen, daß eine lösliche Substanz allein für die Entwickelung der Anaëroben verantwortlich ist. Um diese Frage zu beantworten, muß man mit ganz klaren Medien Kulturversuche anstellen. Ich bemühte mich daher, nach verschiedenen Methoden eine klare Bouillon, welche noch die wichtige Organsubstanz enthält, zu erlangen:

1) Leberstücke wurden in einem sterilen Mörser mit Bouillon emulgiert. Diese Emulsion ergab einen vortrefflichen Nährboden für Anaëroben. Nun filtrierte ich die Emulsion durch steriles Filterpapier, dadurch aber wurde sie nicht ganz durchsichtig, sondern sah milchwasserartig getrübt aus. Erst nach vielmaliger Wiederholung der Filtration wurde sie endlich durchscheinend, doch mit etwas opaleszierendem Ton, und war natürlich viel zäher als die originale Bouillon. Mit der Wiederholung der Filtration ging die Nährkraft des Filtrates immer mehr verloren. Zwar taugte das letztgenannte durchscheinende Filtrat noch knapp als Nährboden, aber es läßt sich daraus kein definitiver Schluß ziehen, weil in dem Filtrat nicht allein ein löslicher Bestandteil der Leber, sondern auch ganz feine Partikelchen zurückgeblieben sein mochten. Wenn man aber auch von diesen kleinen Mengen feinster Partikelchen absieht, so ist doch eine Veränderung der Viskosität der Bouillon, ein bemerkenswertes mechanisches Moment, nicht verkennbar.

2) Organstücke in Bouillon eingelegt, wurden 2—3 Stunden in einen Brutschrank gestellt, dann 20 Minuten gekocht und filtriert. Dieses Filtrat taugte auch als guter Nährboden, gab aber gleichfalls keine klare Flüssigkeit.

3) Feingeschnittene Leberstücke wurden in physiologischer Kochsalzlösung einige Tage im Eisschrank infundiert, dann wiederholt durch steriles Filterpapier filtriert. Dieses Leberextrakt mit Bouillon gemischt, machte letztere sehr geeignet für meinen Zweck, doch war weder das Extrakt noch die mit ihm gemischte Bouillon klar.

Niemals bei allen Versuchen konnte ich aus Leberstücken einen Nährboden darstellen, welcher ganz klar und flüssig wie gewöhnliche Bouillon gewesen wäre. Dabei fand ich es bemerkenswert, daß die Klarheit und der Nährwert der Flüssigkeiten im umgekehrten Verhältnis standen. Daher ist wohl anzunehmen, daß eine feste Partikel in Bouillon, wie Organstück oder Zelle, oder die durch Mazeration der Zellen bedingte mechanische Veränderung der Bouillon nicht ohne Belang für die aërobische Züchtung der Anaëroben in diesem Nährboden ist, wenn auch wohl die lösliche Substanz dabei die Hauptrolle spielen mag.

Nach Beijerincks exakten Untersuchungen ist es klar, daß für die Entwickelung der Anaëroben ein absoluter Sauerstoffabschluß nicht eine unbedingte Notwendigkeit ist, sondern daß sie auch in minimalen Mengen Sauerstoff stattfinden kann. Diese Menge des Sauerstoffs schwankt je nach der Art und dem Stamm der Anaëroben. Wenn eine streng obligate Anaërobe erst bei ganz geringem Luftzutritt gezüchtet, dann an eine immer erhöhtere Luftmenge gewöhnt wird, so steigt die unterste Grenze des Sauerstoffs, in dem noch die Anaërobe wachsen kann, immer höher, bis wir nicht mehr eine obligate, sondern eine fakultative Anaërobe haben. Chudiakow (13) hat sogar eine durch Gewöhnung fakultativ gewordene Anaërobe durch Züchtung in immer verminderterem Sauerstoff wieder zu einer streng obligaten zurückgeführt.

Es ist zu vermuten, daß eine solche, nicht streng obligate Anaërobe, welche in einer gewöhnlichen klaren Bouillon unter Luftzutritt nicht wachsen kann, dennoch zur Entwickelung gelangen könnte, wenn in dieselbe Bouillon einige feste Körperchen eingelegt würden, da sie sich in dem letzten Fall in den Körperchen verbergen könnte und dadurch vor der freien Luftwirkung mehr geschützt wäre, als in einfach klarer Flüssigkeit. Die Richtigkeit dieser Annahme wurde durch folgende Versuche nachgewiesen: Ein ein wenig an Sauerstoff gewöhnter Tetanusbacillus und ein ebenso beschaffener Bacillus des malignen Oedems standen mir bei diesen Versuchen zur Verfügung.

1) Ich steckte einen kleinen Bausch von entfetteter Watte in die Mitte eines Bouillonröhrchens und steriliserte es im Dampftopf. Sofort nach Abkühlung der Bouillon impfte ich dieselbe mit den oben genannten Bacillen. Schon am folgenden Tage war eine deutliche Trübung unterhalb des Wattebausches bemerkbar, welche 24 Stunden später auch oberhalb desselben sich verbreitete, während die keine Watte enthaltende Kontrollbouillon ganz klar blieb.

2) Eine gewöhnliche Bouillon ohne Zusatz wurde einmal gekocht und gleich nach der Abkühlung mit Oedembacillus geimpft, und zwar nicht mit Bacillen allein, sondern mit einem 2 cm langen Agarstück einer gutgewachsenen Stichkultur. Nach einigen Tagen bemerkte ich eine sich immer von unten nach oben verbreitende diffuse Trübung, während in der auf dieselbe Weise zubereiteten Kontrollbouillon, die aber mit Bacillen allein geimpft war, das Wachstum ausblieb.

3) Eine vom eigenen Kot frisch isolierte, sporenhaltige, ödembacillusähnliche Anaërobe wurde gleichfalls zum Versuche herangezogen. Sie wuchs in der Stichkultur stark bis zum Einstichpunkt, war also keine strenge Anaërobe. Mit Agarstück in Bouillon in gleicher Art wie bei dem Oedembacillus verimpft, wuchs sie so schnell, daß am folgenden Tage eine starke Trübung der ganzen Bouillon mit lebhafter Gasentwickelung in Erscheinung trat. Auch bei diesem Bacillus blieb das Kontrollröhrchen ohne Agarstück lange klar.

Aus diesen Versuchsresultaten scheint hervorzugehen, daß die Bacillen ihren ersten Ansiedelungsplatz nicht in der flüssigen Bouillon, sondern in den derselben zugeführten soliden Watte- und Agarstückchen finden und beim Wachstum in denselben eine reduzierende Substanz produzieren, um dadurch die umgebende freie Bouillon zum kultivierbaren Feld für weiteres Wachstum vorzubereiten. Man darf danach vermuten, daß, wenn sich von Anfang an eine reduzierende Substanz mit einem festen Körper in Bouillon zusammen vorfindet, auch eine strenge Anaërobe darin wachsen kann, weil, wie oben angeführt, für die Kultivierung der Anaërobe ein absoluter Sauerstoffabschluß nicht unbedingt nötig ist.

Die Reduktionsfähigkeit der Organe und der Milch ist schon lange bekannt. Diese Fähigkeit der Organzellen, welche von Tarozzi nicht sehr beachtet worden war, spielt bei seiner Methode doch wohl die Hauptrolle.

Zu 10 ccm Bouillon wurde ein 1 ccm großes Stück Leber eingelegt und dann mit 5 Tropfen 2-proz. Methylenblaulösung gefärbt. Schon nach einer Stunde war die Bouillon bis auf die obersten, von der Luft direkt berührten Schichten entfärbt, während die Kontrollbouillon ohne Leberstück unverändert blau blieb. Auch Bouillon, in welche einige Stunden lang ein Leberstück eingetaucht und dann herausgenommen wurde, war imstande, 2 Tropfen jener Farbstofflösung schnell zu reduzieren. In einer Leberbouillon, welche 3 Tage bei 37° aufbewahrt worden war, bemerkte ich ebenfalls deutliche Reduktionsfähigkeit.

Eine Leberbouillon, in welcher schon eine Anaërobe gezüchtet und gewachsen war, hatte eine unvergleichlich starke Reduktionsfähigkeit.

Die Vermutung, daß die Anaëroben bei der Tarrozzischen Methode von der Reduktionsfähigkeit der Organzellen und durch die Zellen selbst als feste Körper geschützt zum ersten Wachstum angeregt werden und dann durch eigene weitere Entwickelung dieser Fähigkeit sich weiter kultivieren, ist daher wohl berechtigt. Ueber die Rolle der beiden Momente bei der aëroben Kultivierung der Anaëroben wird noch weiter unten die Rede sein.

b) Wrzoseks Kartoffelbouillon.

Da im Verlaufe meines Versuchs der zweite Bericht Wrzoseks erschien, habe ich die Kartoffelbouillon genau nach seiner Angabe dargestellt und in ihr einen gut brauchbaren Nährboden für unsere Zwecke gefunden.

Aber es bedurfte zur Erklärung des Mechanismus der Methode keines besonderen Versuchs, weil die Kartoffel ja auch Reduktionskraft hat und als fester Körper wirkt. Auch wenn das Kartoffelstück nach dem Kochen in Bouillon wieder herausgenommen wird, ist die Bouillon schon durch die Kartoffelstärke viel zäher als vorher geworden. Diese Zähigkeit wirkt gleich einem festem Körper gegen das Eindringen des Sauerstoffs in die tieferen Schichten der Bouillon.

c) Versuche mit reduzierenden Salzen.

Ich versuchte, die reduzierende Substanz der tierischen oder pflanzlichen Gewebe, deren chemische Natur ganz unklar ist, durch einfachere Reduktionsmittel zu ersetzen. Dazu benutzte ich verschiedene anorganische Salze, namentlich Na_2S, Na_2SO_3, $Na_2S_2O_3$, und zwar Na_2S und $Na_2S_2O_3$ als Kristall, aber Na_2SO_3 in wasserfreie Pulverform gebracht.

20-proz. Lösungen von diesen Salzen wurden einmal gekocht, dann zu frisch dargestellter, noch warmer Bouillon, deren Reaktion genau neutral ist, in steigenden Mengen zugesetzt und warm filtriert. Diese verschiedenen Bouillons wurden in Reagenzgläser oder in Kölbchen in hoher Schicht verteilt und sterilisiert. Bald nach eingetretener Abkühlung wurden sie mit strengen Anaëroben geimpft. Während alle mit Bakterien allein geimpfte Salzbouillons negative Resultate ergaben, wurde in denen, in welche die Bakterien mit Agarstücken von Stichkultur transplantiert waren, die Entwickelung in geeigneter Salzkonzentration mehr oder minder bemerkbar. Die folgende Tabelle, ein Beispiel[1]) der immer dasselbe Resultat ergebenden wiederholten Versuche, macht dies ersichtlich.

Weil diese Salze außer der Reduktionskraft auch starke Alkaleszenz besitzen, habe ich die Reaktion und die Reduktionsfähigkeit dieser Salzbouillon gemessen, und zwar jene durch Titrierung, wobei Lackmus und Phenolphtalein als Indikatoren gebraucht, diese durch Entfärbung der Methylenblaulösung bestimmt wurden. Jedenfalls ist die Reduktionskraft der Salzbouillon im allgemeinen viel schwächer als die der Organbouillon; so entfärbten z. B. 10 ccm 3-proz. Na_2S-Bouillon, welche unter den Salzbouillons am stärksten reduzierend wirkt, nur 1 Tropfen 0,5-proz. Methylenblaulösung nach $^3/_4$ Stunden.

Bei einer vergleichenden Untersuchung der verschiedenen Salzbouillons habe ich gefunden, daß Na_2S-Bouillon am stärksten sowohl an Alkaleszenz als auch an Reduktionskraft war, und infolge dessen bei hohem Salzgehaltes keine Bacillen darin wuchsen. Na_2SO_3-Bouillon wirkte ebensogut reduzierend, war aber nicht so stark alkalisch wie jene, daher wuchsen in ihr die Bakterien in weiteren Grenzen als in jener. Da $Na_2S_2O_3$-Bouillon in beiden Beziehungen am schwächsten war, konnten sich darin bei dem relativ hohen Salzgehalt die Bakterien entwickeln. Doch war das Wachstum nicht so lebhaft wie in Na_2SO_3-Bouillon, und die Bakterien in $Na_2S_2O_3$-Bouillon hatten die Neigung, sich zu Flocken zusammenzuballen und niederzuschlagen, ohne eine allgemeine Trübung des Nährbodens hervorzurufen.

Unter den untersuchten Bakterienarten kann der Tetanusbacillus beim höchsten Grade der Reduktion wachsen, während dies die anderen nur bei mäßiger Reduktion und Alkaleszenz können. Dabei ist es bemerkenswert, daß eine strenge Anaërobe, wie der Tetanusbacillus, nicht nur in stark, sondern auch in ganz schwach reduzierender Flüssigkeit zum Wachstum gelangen kann, wenn er mit Agarstücken zusammen eingeführt wird, während Bakterien allein verimpft, auch in stark reduzierenden Flüssigkeit nicht gedeihen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß eine strenge Anaërobe auch unter Luftzutritt wachsen kann, wenn in der Nährbouillon ein reduzierendes Salz in geeigneter Konzentration zusammen mit einem festen Körper enthalten ist.

---

1) Alle Versuche wurden natürlich wiederholt gemacht, und ergaben stets das gleiche Resultat, aber in der Tabelle kommt nur ein Beispiel zur Darstellung.

Tabelle I.

Bouillon enthält		Entwickelung des											
		Tetanusbacillus nach				Oedembacillus nach				Rauschbrandbacillus nach			
Salz	Proz.	24 Std.	48 Std.	3 Tagen	5 Tagen	24 Std.	48 Std.	3 Tagen	5 Tagen	24 Std.	48 Std.	3 Tagen	5 Tagen
Na_2S (Kristall)	3,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,3	—	—	—	Spur	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,1	—	—	Spur	stark	stark	schwach	wieder klar	—	—	—	—	—
	0,05	—	—	stark	„	„	stark	stark	stark	stark	stark	schwach	schwach
	0,03	—	schwach	„	„	„	sehr stark mit Gas	sehr stark	„	„	„	stark	stark
	0,01	—	stark	sehr stark mit Gas	sehr stark	sehr stark	stark	stark	wieder klar	„	schwach	„	„
Na_2SO_3 (Anhydrat)	3,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1,0	—	stark	sehr stark	sehr stark	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,5	stark	„	stark	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,3	„	sehr stark	sehr stark	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,1	—	stark	stark	stark	—	stark	stark	stark	—	—	—	—
	0,05	—	nur am Boden	nur am Boden	„	stark	„	„	sehr stark	—	—	—	stark
	0,03	—	Spur	„ „ „	„	„	„	„	„ „	—	nur am Boden	stark	sehr stark
	0,01	—	„	Spur	„	„	„	„	„ „	—	—	—	Spur
$Na_2S_2O_3$ (Kristall)	3,0	—	—	—	—	—	Flocke	Flocke	Flocke	—	—	—	—
	1,0	—	stark	stark	wieder klar	—	„	„	„	—	Flocke	Flocke	Flocke
	0,5	—	sehr stark	„	„ „	stark	„	„	„	stark	„	„	„
	0,3	Spur	stark	„	„ „	„	„	„	„	„	„	„	„
	0,1	„	„	„	stark	„	„	„	„	nur am Boden	„	„	„
	0,05	—	„	„	„	nur am Boden	„	„	„	nur am Boden	nur am Boden	„	„
	0,03	—	—	„	„	—	nur am Boden	„	„	—	—	„	„
	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrollbouillon		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Bemerkungen: Stark: Allgemeine Trübung,
Schwach: Schwächere allgemeine Trübung,
Wieder klar: Entwickelung hat aufgehört,
Flocke: Bakterien ballen sich flockig zusammen.

In Salzbouillon im allgemeinen ist Gasbildung sehr selten bemerkbar!

Nach wiederholten Untersuchungen ist unter oben genannten Salzen am geeignetsten Natriumsulphit, und zwar 0,3—0,7-proz. wasserfreies Natriumsulphit. Es sei hier noch bemerkt, daß käufliches Natriumsulphit sehr oft relativ große und wechselnde Mengen Natriumkarbonat und auch Natriumsulphat enthält, und daher viele meiner Versuche gescheitert sind. Es ist also zu empfehlen, bei jedem Präparat einen Vorversuch anzustellen, um die geeignetste Konzentration zu finden.

d) Versuche mit Metallen und Eisenverbindungen.

Die Reduktionskraft der Metalle wurde gleichfalls in Erwägung gezogen. Zuerst wurde der chemische Vorgang untersucht, den die Metalle, Magnesium, Aluminiumamalgam, Zink, Eisen, Zinn und Aluminium, beim Zusammentreffen mit der Bouillon hervorrufen. Magnesium und Aluminiumamalgam lösten sich in Bouillon schon bei Zimmertemperatur und brachten dabei den Wasserstoff zu lebhafter Entwickelung. Nach der Stärke der Reduktionskraft folgte dann das Zink, welches erst bei 37° den Wasserstoff sich entwickeln ließ. Eisen, Zinn und Aluminium haben viel geringere Kraft und brachten erst bei 100° den Wasserstoff zur Entwickelung. Magnesium und Aluminiumamalgam also reduzieren die Bouillon sehr kräftig, aber die Bouillon wird dabei infolge der Auflösung der Metalle so stark alkalisch, daß sie nicht mehr als Nährboden benutzt werden kann. Dagegen reduzieren Eisen, Zinn und Aluminium die Bouillon nur während der Sterilisation, schützen aber sowohl im Brutofen als auch bei Zimmertemperatur die tieferen Schichten der Bouillon vor Reoxydation. Diese Metalle lösen sich in Bouillon sehr wenig und verändern daher auch die Reaktion des Nährbodens nur in geringem Maße.

Es wurde zu 20 ccm Bouillon je 1 g Metallpulver zugesetzt und im Kochtopf sterilisiert. Diese Metallbouillons wurden auf ihre Reaktion und Reduktionskraft geprüft, wobei sich folgende Resultate (Tabelle II) ergaben:

Tabelle II.

Bouillon mit	Reaktion	1 Tropfen 2-proz. Methylenblaulöeug wurden
Magnesium	stark alkalisch	Bald entfärbt
Aluminiumamalgam	„ „	„ „
Zink	schwach alkalisch	Beim Stehen nur die Umgebung des Metalls, erst beim Schüttelm ganz entfärbt
Eisen	„ „	do.
Zinn	„ „	Nur beim Schütteln entfärbt
Aluminium	„ „	„ „ „ „
Kontrollbouillon ohne Metall	neutral	Nicht entfärbt

Diese Metallbouillons wurden bald nach Abkühlung mit streng obligaten Anaëroben, und zwar Bacillen allein (ohne Agarstück), geimpft. Das Resultat zeigt die Tabelle III.

In Metallbouillon bewirkt die Reduktionsfähigkeit des Metalls mit der durch das Metall hervorgerufenen mechanischen Veränderung der Bouillon das Wachstum der Anaëroben. Daher bedarf es hier nicht wie bei der Salzbouillon eines hinzugefügten Agarstückes; es genügt vielmehr die Impfung der Bacillen allein zur Kultivierung derselben. Wiederholte Versuche mit diesen Metallen ergaben, daß das Eisen am geeignetsten

Tabelle III.

Bouillon mit	Entwickelung des								
	Tetanusbacillus nach			Oedembacillus nach			Rauschbrandbacillus nach		
	24 Std.	48 Std.	3 Tagen	24 Std.	48 Std.	3 Tagen	24 Std.	48 Std.	3 Tagen
Magnesium	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aluminiumamalgam	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zink	—	stark	stark	—	nur am Boden	nur am Boden	—	stark	stark
Eisen	stark	sehr stark	sehr stark	stark	sehr stark	sehr stark	stark	sehr stark	sehr stark
Zinn	—	stark	stark	—	" "	" "	—	stark	stark
Aluminium	—	schwach	schwach	—	schwach	schwach	—	schwach	schwach
Kontrollbouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Bemerkung: In Metallbouillons ist das Bakterienwachstum immer von Gasbildung begleitet und die Bouillons verfärben sich dunkelschwarz.

ist. In Eisenbouillon ist das Wachstum der Anaëroben schon nach 10 Stunden bemerkbar, und am folgenden Tage trübt sich die Bouillon bis zur obersten Schicht mit gleichzeitiger starker Gasentwickelung. Unter Bildung von Schwefeleisen färbt sie sich ganz dunkel. An Stärke der Anaërobenentwickelung steht die Na_2SO_3-Bouillon sehr weit, und selbst die Organbouillon etwas hinter der Eisenbouillon zurück. Es genügen schon sehr geringe Mengen Eisen, z. B. $^1/_{50}$ der Bouillon, um die Anaëroben zur Entwickelung zu bringen. Wenn man Bouillon mit beliebigen Mengen Eisenpulver gekocht bereit hält, so ist sie selbst nach Wochen noch in zufriedenstellender Weise verwendbar.

Auch auf schrägem Agar, welchem vorher Eisenpulver zugesetzt war, konnte ich den Tetanusbacillus züchten; aber es gelang mir nur dann, wenn ich sehr viele Keime darauf gesät hatte. Es zeigten sich dann am 2. Tage zahlreiche, ganz kleine, kaum sichtbare Kolonieen, von denen die meisten allmählich verschwanden, während die wenigen zurückgebliebenen Kolonieen weiter wuchsen, bis sie ungefähr 2 mm Durchmesser erreichten, um dann wieder langsam zu verschwinden. Ein Strichpräparat aus dieser schwach entwickelten Kolonie zeigte eine deutliche Formveränderung und Degeneration der Bacillen, d. h. lange, schwer färbbare, asporogene Fäden. Es ist daher selbstverständlich, daß Eisenagar zur Isolierung der Anaëroben kaum brauchbar ist, doch ist er der einige feste Nährboden, auf welchem die Anaëroben bei unbehindertem Luftzutritt wachsen können.

Die Wirkung des Eisens in der Eisenbouillon kann man wohl folgendermaßen erklären: Wenn eine Bouillon mit Eisen gekocht wird, setzt sich ein Teil des Eisens in Eisenoxydsalze um, und es fällen sich diese Salze mit Proteidflocken zu einem voluminösen Niederschlag, während ein anderer Teil sich in Eisenoxydulsalze umsetzt und in demselben Zustand reduzierend wirkt.

Von diesem Standpunkt aus stellte ich einige Versuche an, um zu sehen, ob eine wasserlösliches Eisenoxydulsalz enthaltende Bouillon imstande sei, die Anaëroben zum Wachstum zu bringen. Zu diesen Versuchen wurde Ferrosulphatkristall benutzt. Beim Zusetzen des Salzes zu einer heißen Bouillon bildete sich ein starker Niederschlag. Filtrierte ich die Bouillon klar, so bildete sich bei nachheriger Sterilisation dieser Niederschlag doch wieder.

In die diesen Niederschlag enthaltende Bouillon wurden streng obligate Anaëroben verimpft. Die folgende Tabelle zeigt das Resultat:

Tabelle IV.

Bouillon mit Ferrosulfat von	Durchsichtigkeit der Bouillon	1 Tropfen 5-proz. Methylenblaulösung wurde entfärbt	Entwikelung des					
			Tetanusbacillus nach		Oedembacillus nach		Rauschbrandbacillus nach	
			24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std
0,5 Proz.	st. getrübt	nach 1 Std.	stark	stark	stark	stark	stark	stark
0,3 „	„	nach 1½ Std.	„	„	„	„	„	„
0,2 „	„	nach 3 Std.	„	„	„	„	„	„
0,1 „	getrübt	wenig verblichen	„	„	„	„	„	„
0,05 „	„	nicht entfärbt	schwach	„	schwach	„	schwach	„
0,03 „	„	„ „	„	„	„	„	„	„
0,01 „	„	„ „	„	„	„	„	„	„
Kontrollbouillon	klar	„ „	—	—	—	—	—	—

Bemerkung: Bei allen Kulturen war das Bakterienwachstum sehr gut, und die Bouillon wurde dunkel. Gasbildung war bei 0,1 Proz. und darüber bemerkbar; bei 0,05 Proz. und darunter zeigte sich kein Gas mehr.

Dieser Versuch lehrt, daß 0,1 Proz. Ferrosulphat genügt und eine starke Reduktion nicht erforderlich ist.

Nun wurde 0,3-proz. $FeSO_4$-Bouillon wiederholt gekocht und filtriert, um zu sehen, ob auch klar filtrierte $FeSO_4$-Bouillon unserem Zweck entspreche. Erst nach 3—4maliger Wiederholung dieser Manipulationen erhielt ich ein ganz klares Filtrat, welches sich durch nachherige Sterilisation nicht mehr trübte. Die chemische Untersuchung zeigte, daß das erste Filtrat noch deutliche, das zweite nur noch schwache Eisenoxydulreaktion aufwies, und daß nach der dritten Filtration ganz geringe Mengen Eisensalz zurückgeblieben waren. Es ließ sich nicht mehr sicherstellen, ob dieses geringe Quantum Salz Oxydulsalz oder Oxydsalz war. Das Resultat der Anaërobenzüchtung in diesen Filtraten zeigt die Tabelle V:

Tabelle V.

Filtrat	Durchsichtigkeit nach der Sterilisation	Eisenreaktion	Entwickelung des								
			Tetanusbacillus nach			Oedembacillus nach			Rauschbrandbacillus nach		
			24 Std.	48 Std.	3 Tagen	24 Std.	48 Std.	3 Tagen	24 Std.	48 Std.	3 Tagen
.	stark getrübt	deutliches Oxydulsalz	stark	sehr stark	sehr stark	stark	sehr stark	sehr stark	stark	stark	stark
I.	etwas getrübt	schwaches Oxydulsalz	—	schwach	schwach	„	stark	stark	„	„	„
II.	ganz klar	nur geringe Eisenreaktion	—	—	—	schwach	schwach	schwach	—	—	—
V.	ganz klar	nur geringe Eisenreaktion	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Obgleich es mir nicht gelang, eine klare, aber noch nährtätige $FeSO_4$-Bouillon zu erhalten, hat doch dieser Versuch den Beweis erbracht, daß in Eisenbouillon Oxydulsalze eine wichtige Rolle spielen.

2. Versuche bezüglich der Giftproduktion.

Ueber die Giftproduktion der Anaëroben in aërober Züchtung sind noch wenige Arbeiten publiziert, und diese meistens mit negativen Resul-

taten. So hatte z. B. Ferrán (4) den Tetanusbacillus unter Acetylengasatmosphäre gezüchtet und durch allmähliche Gewöhnung an Sauerstoff zu einer Aërobe umgewandelt. In dieser aërobischen Kultur wurde der Bacillus ganz avirulent und bildete kein Gift. Aus diesem Versuche hatte Ferrán sogar den Schluß gezogen, daß der Tetanusbacillus in der Natur eigentlich eine avirulente Aërobe sei und erst durch künstliches und zufälliges anaërobisches Dasein zu einer virulenten Anaërobe sich umgestalte. Dieser Schluß scheint mir zu übereilt, obwohl es richtig ist, daß ein virulenter Tetanusbacillus durch aërobische Kultivierung unter Umständen zu einem avirulenten umgezüchtet werden kann. Ein positives Resultat enthält meines Wissens nur eine Angabe Tarozzis. Er sagt aber nur, der Tetanusbacillus büße bei seiner Kulturmethode an Virulenz nichts ein.

Die Untersuchung der Giftproduktion hat aber sowohl theoretischen als auch praktischen Wert. So habe ich immer bei verschiedenen Kulturmethoden die Menge des Tetanusgiftes wiederholt gemessen, und bei der einen Methode ein sehr befriedigendes, bei der anderen ein ganz negatives Resultat erzielt.

Der zu meinem Versuch benutzte Tetanusbacillus war so stark virulent, daß 1 ccm einer unter Wasserstoffatmosphäre gezüchteten Bouillonkultur eine Toxizität von 3—4 Millionen + Ms., und 1 ccm einer unter flüssigem Paraffin gezüchteten Bouillonkultur eine von 1—2 Mill. + Ms. aufwies. Mit diesem Bacillus ward die Giftbildung bei verschiedenen aëroben Kulturmethoden mehrmals untersucht; der Kürze halber sei hier nur je ein Beispiel von jeder Methode angeführt:

a) Giftproduktion in Tarozzis Organbouillon.

In dieser Bouillon erzeugte der Bacillus ungefähr soviel Toxin, wie in einer mit flüssigem Paraffin bedeckten Bouillon. Tabelle VI zeigt das Resultat von Tierversuchen mit Organbouillonkultur:

Tabelle VI.

10-tägige Kultur in	Mäuse	Injizierte Giftmenge pro 1 ccm berechnet	Resultat nach			
			24 Stund.	48 Stund.	3 Tagen	4 Tagen
Leberbouillon	1	200 000 + Ms.	≡	#	+	
	2	500 000 + Ms.	=	≣	#	+
	3	1 000 000 + Ms.	=	=	#	+
	4	2 000 000 + Ms.	0	—	=	≡
	5	5 000 000 + Ms.	0	—	—	—
Milzbouillon	6	200 000 + Ms.	≡	#	+	
	7	500 000 + Ms.	≣	≣	#	+
	8	1 000 000 + Ms.	=	=	#	+
	9	2 000 000 + Ms.	—	—	=	=
	10	5 000 000 + Ms.	0	0	0	0

Bemerkung: — = ≡ # Die Zahl der Striche zeigt die Schwere des Krankheitsbildes; + tot; 0 gesund.

b) Giftproduktion in Kartoffelbouillon.

Hier zeigte sich eine viel schwächere Giftproduktion als bei Organbouillon (Tabelle VII):

Tabelle VII.

9-tägige Kultur in	Mäuse	Injizierte Giftmenge pro 1 ccm berechnet	Resultat nach			
			24 Stund.	48 Stund.	3 Tagen	4 Tagen
Kartoffel-bouillon	1	200 000 + Ms.	≡	#	#	+
	2	500 000 + Ms.	=	≡	#	+
	3	1 000 000 + Ms.	—	=	≡	≡
	4	2 000 000 + Ms.	0	0	=	=
	5	5 000 000 + Ms.	0	0	0	0

Tabelle VIII.

10-tägige Kultur in	Mäuse	Giftmenge pro 1 ccm berechnet	Resultat nach			
			24 Stund.	48 Stund.	3 Tagen	4 Tagen
1-proz. Na_2SO_3-Bouillon	1	500 000 + Ms.	#	+		
	2	1 000 000 + Ms.	≡	#	+	
	3	2 000 000 + Ms.	≡	≡	+	
	4	3 000 000 + Ms.	=	≡	#	+
	5	5 000 000 + Ms.	0	=	#	# starb nach 5 Tagen
	6	10 000 000 + Ms.	0	0	=	≡
0,7-proz. Na_2SO_3-Bouillon	7	500 000 + Ms.	+			
	8	1 000 000 + Ms.	≡	+		
	9	2 000 000 + Ms.	=	#	+	
	10	3 000 000 + Ms.	=	≡	#	+
	11	5 000 000 + Ms.	—	≡	#	+
	12	10 000 000 + Ms.	0	=	≡	#
0,5-proz. Na_2SO_3-Bouillon	13	500 000 + Ms.	≡	+		
	14	1 000 000 + Ms.	≡	#	+	
	15	2 000 000 + Ms.	—	≡	#	+
	16	3 000 000 + Ms.	—	=	#	+
	17	5 000 000 + Ms.	0	=	≡	# starb nach 5 Tagen
	18	10 000 000 + Ms.	0	—	=	≡
0,1-proz. Na_2S-Bouillon	19	500 000 + Ms.	=	+		
	20	1 000 000 + Ms.	—	≡	#	+
	21	2 000 000 + Ms.	0	=	≡	#
	22	3 000 000 + Ms.	0	=	=	≡
	23	5 000 000 + Ms.	0	0	0	=
	24	10 000 000 + Ms.	0	0	0	0
1-proz. $Na_2S_2O_3$-Bouill.	25	500 000 + Ms.	=	#	+	
	26	1 000 000 + Ms.	=	≡	#	+
	27	2 000 000 + Ms.	=	≡	≡	#
	28	3 000 000 + Ms.	—	≡	≡	#
	29	5 000 000 + Ms.	0	—	=	=
	30	10 000 000 + Ms.	0	0	0	0
0,5-proz. $Na_2S_2O_3$-Bouill.	31	500 000 + Ms.	—	=	#	+
	32	1 000 000 + Ms.	0	=	≡	≡
	33	2 000 000 + Ms.	0	0	—	—
	34	3 000 000 + Ms.	0	+ ab. kein Tetanus		
	35	5 000 000 + Ms.	0	0	0	0
	36	10 000 000 + Ms.	0	0	0	0
0,3-proz. $Na_2S_2O_3$-Bouill.	37	500 000 + Ms.	—	≡	#	+
	38	1 000 000 + Ms.	—	=	≡	#
	39	2 000 000 + Ms.	0	—	≡	≡
	40	3 000 000 + Ms.	0	0	=	=
	41	5 000 000 + Ms.	0	0	0	—
	42	10 000 000 + Ms.	0	0	0	0

c) Giftproduktion in verschiedenen Salzbouillons.

In Salzbouillon, besonders in Na_2SO_3-Bouillon, produzierte der Tetanusbacillus das Gift sehr stark, noch stärker als in Organbouillon und zuweilen auch als in Bouillon unter Wasserstoffatmosphäre. Tabelle VIII zeigt ein Beispiel der umfangreichen vergleichenden Untersuchungen, wozu mehr als 300 Mäuse verbraucht worden waren.

d) Giftproduktion in Eisen- und Eisensalzbouillon.

In Eisenbouillon und $FeSO_4$-Bouillon produzierte der Tetanusbacillus sehr wenig Toxin, weniger als 100 + Ms. pro 1 ccm Kultur. Nur einmal zeigte sich ausnahmsweise in einer Eisenbouillon, welcher 2 Proz. frisches Rinderserum zugesetzt waren, eine Giftmenge von 200000 + Ms. pro 1 ccm.

Warum wird in Eisenbouillon trotz des viel kräftigeren und schnelleren Wachstums der Bakterien in ihr eine so viel geringere Giftmenge als in Na_2SO_3-Bouillon produziert? Man könnte nun annehmen, daß auch in Eisenbouillon Toxin zwar einmal erzeugt, aber durch das Eisen weiter zersetzt oder mitgerissen würde und deshalb nicht mehr nachweisbar wäre.

Es wurden deshalb folgende Versuche ausgeführt: Der Tetanusbacillus wurde von Eisenbouillon zu Eisenbouillon 3mal hintereinander übertragen, dann in Natriumsulphit-Bouillon oder anderen, das Toxin nicht schädigenden Medien gezüchtet. Doch war hier keine Toxinproduktion nachweisbar. Es ist demnach klar, daß durch aërobisches Dasein in Eisenbouillon ein vollvirulenter Tetanusstamm zu einem avirulenten entartet.

e) Giftproduktion in Blutserum enthaltender Bouillon.

Smith (10) meint, daß in den Organen wohl eine Art Eiweiß sich vorfände, welches den Anaëroben unter Luftzutritt sich zu entwickeln ermöglicht. Danach versuchte ich, das Wachstum der Anaëroben in Na_2SO_3-Bouillon und anderer Salzbouillon durch Zusatz von Blutserum

Tabelle IX.

9-tägige Kultur in	Mäuse	Toxinmenge pro 1 ccm berechnet	Resultat nach			
			24 Stund.	48 Stund.	3 Tagen	4 Tagen
0,5-proz. Na_2SO_3-Bouillon ohne Serum	1	1 000 000 + Ms.	≡	+		
	2	2 000 000 + Ms.	=	#	+	
	3	3 000 000 + Ms.	=	≡	+	
	4	5 000 000 + Ms.	—	≡	#	+
	5	10 000 000 + Ms.	0	≡	≡	#
derselb. Bouillon mit 2,5 Proz. frischem Pferdeserum	6	2 000 000 + Ms.	≡	+		
	7	3 000 000 + Ms.	=	+		
	8	5 000 000 + Ms.	—	#	+	
	9	10 000 000 + Ms.	0	≡	+	
	10	20 000 000 + Ms.	0	≡	#	+
0,1-proz. Na_2S-Bouillon ohne Serum	11	1 000 000 + Ms.	=	#	+	
	12	2 000 000 + Ms.	0	≡	#	#
	13	3 000 000 + Ms.	0	=	≡	≡
	14	5 000 000 + Ms.	0	—	=	=
	15	10 000 000 + Ms.	0	0	0	0
derselb. Bouillon mit 2,5 Proz. frischem Pferdeserum	16	1 000 000 + Ms.	≡	+		
	17	2 000 000 + Ms.	—	≡	+	
	18	3 000 000 + Ms.	0	=	#	+
	19	5 000 000 + Ms.	0	=	≡	#
	20	10 000 000 + Ms.	0	0	—	=

etwas zu begünstigen, d. h. zu verstärken oder zu beschleunigen. Obgleich die Versuche in dieser Richtung, d. h. im Wachstumsverhältnis, keinen besonderen Erfolg lieferten, gelang es mir doch, durch Serumzusatz die Toxinproduktion 3—5mal zu verstärken. Zu diesem Versuche wurde ganz frisches Rinder- und Pferdeserum mit gleichem Resultate benutzt. Tabelle IX zeigt einige Beispiele der immer mit ungefähr gleichem Resultate wiederholten Versuche.

Ueberblicken wir die Resultate der Giftmessung und stellen wir sie vergleichend zusammen, so erhalten wir folgendes Bild:

Kulturmethode	Toxizität pro 1 ccm Kultur
Unter H_2 Atmosphäre	3—4 Mill. + Ms.
Unter flüssigem Paraffin	1—2 „ + „
Tarozzis Organbouillon	1—2 „ + „
Wrzoseks Kartoffelbouillon	$^1/_2$ „ + „
Na_2SO_3-Bouillon	3—5 „ + „
Na_2S-Bouillon	1 „ + „
$Na_2S_2O_3$-Bouillon	$^1/_2$—1 „ + „
Na_2SO_3-Bouillon mit Serumzusatz	20 „ + „
Na_2S-Bouillon mit Serumzusatz	3 „ + „
Eisen- und $FeSO_4$-Bouillon	weniger als 100 + „

Zur Giftproduktion des Tetanusbacillus eignet sich also am besten Na_2SO_3-Bouillon, besonders mit einem Zusatz von rund 2 Proz. frischem Blutserum.

Schlußfolgerungen.

Die Gesamtergebnisse meiner Mitteilung lassen sich in aller Kürze wie folgt zusammenfassen:

1) Die Kultivierung der Anaëroben unter Luftzutritt gelingt gemeiniglich in einer Bouillon, die ein Reduktionsmittel und feste Partikelchen enthält.

2) In Smith-Tarozzis Organbouillon und Wrzoseks Kartoffelbouillon wirken die Reduktionsfähigkeit der Zellen und die Zellen selbst als feste Körperchen zusammen mit, um die Anaëroben zum ersten Wachstum bei Luftzutritt anzuregen.

3) In einer Bouillon, welche 0,3—0,7 Proz. wasserfreies Na_2SO_3 enthält, wachsen die Anaëroben bei Luftzutritt, wenn sie mit Agar-Stückchen zusammen eingeführt sind, zwar anfangs langsam, aber endlich sehr stark und produzieren soviel oder oft noch mehr Toxin, wie gewöhnliche Bouillonkultur unter Wasserstoffatmosphäre.

4) In einer Bouillon, welche geringe Mengen Eisenpulver oder Ferrosulphat enthält, wachsen sie, schon wenn Bacillen allein geimpft werden, sehr schnell und kräftig, verlieren aber ihre Virulenz in diesem Nährboden.

5) Durch Zusatz von ein wenig frischem Blutserum zu der Na_2SO_3-Bouillon wird die Toxinproduktion noch 3—5mal gesteigert.

Auch an dieser Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. S. Kitasato für das meinen Versuchen entgegengebrachte rege Interesse, und den Herren Mitgliedern des Instituts, besonders der Serum- und der chemischen Abteilung, für ihre bereitwillige Unterstützung.

P.S. Die neueste Arbeit Wrzoseks (15) und Pfuhls (16) ist mir erst nach meiner Ankunft in Berlin zu Gesicht gekommen.

Literatur.

1) Kedrowsky, W., Ueber die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existieren können. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. p. 358.)
2) v. Oettingen, W., Anaërobie und Symbiose. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLIII. p. 463.)
3) Hesse, W., Ueber die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachstum der Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XV. p. 17.)
4) Scholtz, W., Ueber das Wachstum anaërober Bakterien bei ungehindertem Luftzutritt. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXVII. p. 132.)
5) Kitasato, S. u. Weyl, Th., Zur Kenntnis der Anaëroben. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. VIII. p. 41.)
6) Trenkmann, Das Wachstum der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. p. 1038.)
7) Hammerl, H., Ein Beitrag zur Züchtung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. p. 658.)
8) Tarozzi, G., Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. p. 619.)
9) Wrzosek, A., Ueber das Wachstum obligatorischer Anaëroben auf Kulturmitteln in aërober Weise. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 1268.)
10) Smith, Th., Walker, E. L. and Brown, H. R., The fermentationtube in the study of anaërobic bacteria with special reference to gas-production etc. (Journ. of Med. Res. Vol. XIV. p. 193.)
11) Wrzosek, A., Beobachtungen über die Bedeutungen des Wachstums obligatorischer Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 17.)
12) Beijerinck, M. W., Les organismes anaérobies obligatoires ont-ils bésoin d'oxygéne libre? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Ref. Bd. VI. p. 341.)
13) Chudiakow, N., Zur Lehre von der Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Ref. Bd. IV. p. 389.)
14) Ferrán, J., Ueber das aërobische Verhalten des Tetanusbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. p. 28.)
15) Wrzosek, A., Weitere Untersuchungen über die Züchtung von obligatorischen Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIV. p. 607.)
16) Pfuhl, E., Die Züchtung anaërober Bakterien in Leberbouillon, sowie in Zuckerbouillon und in gewöhnlicher Bouillon mit einem Zusatz von Platinschwamm oder Hepin unter Luftzutritt. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIV. p. 378.)

Ueber eine neue Farbenreaktion zur Erkennung des Typhusbacillus und verwandter Arten im Plattenausstrich.

[Aus der medizinischen Poliklinik der Universität Bonn (Prof. Dr. Leo).]

Von Drs. **Erich** und **Amy Kindborg.**

Mit 1 Figur.

Für die Wichtigkeit der Aufgabe, eine brauchbare Methode zur schnellen und sicheren Isolierung des Typhusbacillus aus den Bakteriengemengen seiner natürlichen Umgebung zu finden, spricht wohl am besten die große Zahl der Forscher, die an die Lösung dieser Aufgabe herangetreten sind. Bekannt ist, daß man das angegebene Ziel auf drei verschiedenen Wegen erreichen wollte: Erstens durch Versuche, den Typhusbacillus gegenüber seinen Begleitern durch eine Farbenreaktion kenntlich zu machen, zweitens durch Bestrebungen, die darauf gerichtet waren, dem gesuchten Mikroorganismus günstigere Lebensbedingungen als seinen Rivalen zu verschaffen, bezw. letztere in ihrer Entwickelung



zurückzuhalten, und drittens durch Kombinationen dieser beiden Methoden. Wenn wir von Entdeckungen heute lediglich noch historischen Wertes absehen dürfen, so ist die erstgenannte Art des Vorgehens die älteste, indem sie auf die im Jahre 1892 publizierten Versuche von Wurtz (1) zurückgeht, der den Hauptkonkurrenten des Typhusbacillus, das Bacterium coli, an seiner Eigentümlichkeit, Milchzucker unter Säurebildung zu vergären, mit Hilfe von dem Nährboden zugesetzter Lackmustinktur zu erkennen vermochte; ein Verfahren, das zu allgemeiner praktischer Anwendung gelangte, als es im Jahre 1902 durch v. Drigalski und Conradi (2) insofern vervollkommnet wurde, als diese Forscher durch Zusatz von Kristallviolett das Wachstum saprophytischer Keime zurückzuhalten und andererseits durch Hinzufügung von Nutrose den Typhusbacillus zu begünstigen wußten, wobei noch seine Fähigkeit, Eiweiß unter Abspaltung alkalischer Zersetzungsprodukte anzugreifen, benutzt wurde, um den Kontrast gegenüber dem (aus Milchzucker) säurebildenden Coli zu verstärken. Für die Vorzüge dieses Verfahrens sprechen eine Reihe günstiger Urteile, wie diejenigen von Krause (3), Stertz (4), Klinger (5), Lipschütz (6), Musehold (7) und Vourloud (8). Indessen haften ihm doch noch verschiedene nicht unerhebliche Nachteile an: vor allem die Kompliziertheit, die manche Forscher, wie Kruse in Bonn und Czaplewski (9) in Köln bewogen hat, zu der Urform, dem Wurtzschen Lackmusmilchzuckeragar, zurückzukehren; ferner die Beschwerlichkeit seiner Handhabung, die sich namentlich bei künstlicher Beleuchtung geltend macht, jedoch selbst bei Tageslicht den Unterschied mancher violett gefärbten Typhus- oder Paratyphuskolonieen gegenüber den roten des Bacterium coli nicht immer mit hinreichender Deutlichkeit erkennen läßt (Petkowitsch)*) (10), ja so weit gehen kann, daß sich auf manchen Platten unter den aufgegangenen Kolonieen alle möglichen Farbenübergänge vorfinden (Marschall)**) (11). Diese Mängel erklären es zur Genüge, daß ein nur wenig später von Endo (12) angegebenes Verfahren es vermochte, mit dem v. Drigalski-Conradischen wirksam in Konkurrenz zu treten. Auch dieses Verfahren benutzt die Eigenschaft des Colibacillus, Milchzucker unter Säurebildung zu vergären, zur Differentialdiagnose, verwendet aber an Stelle der Lackmustinktur den bekannten Farbstoff Fuchsin als Indikator, indem es ihn — wenigstens nach der ihm von seinem Entdecker mitgegebenen Theorie — mittels Natriumsulfit zur farblosen Leukobase reduziert und dann durch die von Coli aus Milchzucker gebildete Säure die rote Farbe wiedergewinnen läßt. Die beiden großen Vorzüge dieses Endoschen Verfahrens, einfache Herstellungsweise und leichte Unterscheidung zwischen Typhus- (farblos) und Coli-Kolonieen (rot) liegen auf der Hand und haben auch vielseitige Anerkennung gefunden (Marschall [11], Klinger [5], Petkowitsch [10]; ferner in der Diskussion der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin: Scheller-Königsberg [13] und Müller-Graz [14]; außerdem Bock [15] und in allerjüngster Zeit Simon [16]). Indessen stehen diesen günstigen Urteilen die Erfahrungen anderer Forscher, wie Clauditz (17), Herberich (18) und Ruata (19) entgegen; und Kutscher (20) kann in dem Ergänzungsband von Kolle-Wassermanns Handbuch bei aller Anerkennung der bereits erwähnten Vorteile, sowie des weiteren, daß infolge der Abwesenheit eines bakterienhemmenden Mittels (wie beim

*) l. c. p. 311.
**) l. c. p. 355.

Drigalski-Conradi-Agar des Kristallvioletts) sämtliche etwa vorhandenen Typhusbacillen zur Auskeimung gelangten, doch auch einen wesentlichen Nachteil des Endoschen Verfahrens nicht unerwähnt lassen, welcher darin besteht, daß bei Anwesenheit zahlreicher Coli-Kolonieen die Diffusion des von ihnen gebildeten roten Farbstoffes in die Umgebung geeignet ist, vereinzelte Typhuskolonieen zu verdecken. Ruata tadelt, daß der Nährboden infolge Zersetzung des leicht oxydierbaren Natriumsulfits mitunter von selbst einen rötlichen Farbenton annähme und diesen auch den an sich farblosen Typhuskolonieen mitteile, deren Unterscheidung von wenig aktiven Coli-Kolonieen erschwerend. Noch weit ungünstiger urteilt Fuerntratt (21), der geradezu eine Umkehrung der angegebenen Farbenreaktion beobachtet haben will, die er darauf zurückführt, daß sich Coli-Kolonieen nach anfänglicher Rötung im Verlauf der fortschreitenden Säurebildung schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit (24 Stunden) wieder entfärben können, während andererseits Typhuskolonieen dadurch Rotfärbung hervorzurufen im stande seien, daß sie den aus Milchzucker unter dem Einflusse der Coli-Säuerung und der Bruttemperatur (nach der Formel $C_{11}H_{22}O_{11} + H_2O = 2\,C_6H_{12}O_6$) entstehenden Traubenzucker unter Säurebildung in Angriff nähmen. Dieser so gebildete Traubenzucker soll es nach Ansicht des genannten Autors auch sein, der vermöge seiner Reaktion als Aldose die intensive Rotfärbung gewisser Coli-Kolonieen bedinge, und nicht einfach, wie Endo gemeint habe, die aus Milchzucker gebildete Säure. Trotz dieser praktischen und theoretischen Anfechtungen besteht die Tatsache, daß das Endosche Verfahren — wohl hauptsächlich infolge seiner Einfachheit und Bequemlichkeit — in der Praxis seinen Platz neben dem v. Drigalski-Conradischen behauptet hat.

Verfolgen diese beiden Methoden den Zweck, den Typhusbacillus nach Möglichkeit kenntlich zu machen, so haben sich andere das Ziel gesetzt, ihn durch Verbesserung seiner Lebensbedingungen, insbesondere gegenüber seinen Begleitbakterien, zur Entwickelung zu bringen. Nur eine dieser Methoden, die von Conradi (22) und Kayser (24) in die Praxis eingeführte Gallenzugabe zum Blut, wird der aufgestellten Forderung unmittelbar gerecht, wobei es noch nicht sicher entschieden ist, ob die Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes (Meyerstein) (25) oder die Entkräftung seiner bakteriziden Substanzen (Conradi [23], Kayser [24]) durch die zugefügte Galle eine ursächliche Rolle spielt. So viel ist indes wohl durch die Untersuchungen Meyersteins sichergestellt, daß das wirksame Prinzip die Gallensalze sind, und dementsprechend sind bereits von diesem Forscher Versuche mit gallensalzhaltigen Nährböden unternommen worden. Da sich aber herausstellte, daß auch Bacterium coli auf derart zubereiteten Nährsubstraten ausgezeichnet gedeiht, so ist von der Methode des Gallenzusatzes für den Ausstrich natürlicher Bakteriengemenge, wie z. B. in Faeces, nichts zu erwarten, wovon sich die Verff. auch durch eigene Versuche mit glykochol- und taurocholsaurem Natron von E. Merck-Darmstadt überzeugt haben; Versuche, die, nebenbei bemerkt, die Angaben Meyersteins*) (26), daß auf Bacterium coli beide Salze, auf den Typhusbacillus dagegen nur das taurocholsaure Natron wachstumsbefördernd wirkten, vollauf bestätigten. Demgemäß ist die Methode des Zusatzes von Galle oder Gallenbestandteilen nur für die Gewinnung des Typhusbacillus aus dem Blute benutzbar.

*) l. c. p. 438.

Anders und in gewissem Sinne umgekehrt wirken die zur Isolierung aus Faeces bisher ersonnenen und mehr oder minder bewährten Methoden. Dieselben erreichen ein überwiegendes Wachstum des Typhusbacillus auf indirektem Wege dadurch, daß sie die Begleitbakterien, insbesondere das Bacterium coli, zurückzudrängen suchen. Die Existenz chemischer Körper, die dies vermochten, ohne den Typhusbacillus allzusehr zu schädigen, hatte man in früherer Zeit kaum für möglich gehalten, weil sich in allen Versuchen das Bacterium coli immer wieder als das resistentere erwiesen hatte. Da bildeten in der Anschauung dieser Dinge zwei gleichzeitig (im Jahre 1903) gemachte Entdeckungen gewissermaßen historische Wendepunkte: die von Roth (27) gefundene besondere Empfindlichkeit des Bacterium coli gegenüber dem Koffein und die Einführung des Malachitgrüns in die Technik der Typhusuntersuchung durch Loeffler (28). Die erstere Entdeckung hat für die Praxis nicht das gehalten, was sie versprochen hat. Zwar haben Ficker und Hoffmann (31) darauf ein brauchbares (v. Jacksch und Rau) (32) Verfahren zur Anreicherung des Typhusbacillus aufgebaut; allein die Umständlichkeit und Schwierigkeit dieses Verfahrens, ohne die es eben einmal nicht abging, haben doch, wie es scheint, seiner allgemeinen Einführung in die Praxis im Wege gestanden (Klinger*) [5], Reischauer**) [33]). Dazu kam, daß die Eigenschaft des Koffeins, Bacterium coli bei gleichzeitiger Schonung des Typhusbacillus zu unterdrücken, sich doch nicht als eine so allgemeingültige erwies, als dies nach den ersten Versuchen den Anschein hatte. So gibt Kloumann (34) an, daß er keine Konzentration des Koffeins habe finden können, die Bacterium coli wirksam hemmte, die Entwickelung des Typhusbacillus aber gestattete; ja Courmont und Lacomme (35) wissen sogar über 4 Typhusstämme von 11 untersuchten zu berichten, die dem Koffein gegenüber noch empfindlicher waren als Bacterium coli (zitiert nach Reischauer***) [32]). Und dieselbe Erscheinung zu beobachten, hatten zufälligerweise auch die Referenten Gelegenheit, als sie mit einer aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn stammenden Typhuskultur genau nach dem Vorgange von Roth (Zusatz von 70—80 Proz. einer 1-proz. Koffeinlösung zu neutralem Agar) Versuche anstellten. Abgesehen von dieser Unzuverlässigkeit der Wirkung tadelt Reischauer (33), daß das Koffein die Agglutinierbarkeit des Typhusbacillus herabsetze und dadurch seine Identifizierung erschwere, bezw. verlangsame, indem erst eine Rückimpfung auf gewöhnlichen Agar notwendig würde. Ganz ungeeignet ist die Koffeinmethode schließlich für die Auffindung des Paratyphus, da dieser Bacillus nach den Beobachtungen von Ficker und Hoffmann, sowie von Marschall und Kloumann gegen das Koffein in hohem Grade empfindlich ist. Zwar soll nicht unerwähnt bleiben, daß Gaethgens (36) dem Zusatze von Koffein zum Endo-Agar bedeutende Vorteile nachrühmt, und neuerdings wieder Lubenau (37) in einer Arbeit aus dem Rubnerschen Institute dem Koffeinverfahren das Wort redet: es müssen trotzdem wohl die ungünstigen Erfahrungen häufiger sein, als sich aus den Publikationen ersehen läßt, denn Tatsache ist, daß heutzutage die Koffeinmethode verlassen ist, und zwar zu Gunsten des Loefflerschen Malachitgrüns. Dessen Anwendung ist namentlich seit der Modifikation

*) l. c. p. 52.
**) l. c. p. 126.
***) l. c. p. 119.

von Lentz und Tietz (38) — Vorkultur auf Malachitgrünagar, Abschwemmung und Ausstrich auf Drigalski-Conradischen oder Endoschen Nährboden — gegenwärtig der am meisten begangene Weg in der Typhusdiagnostik. Es sind namentlich die Urteile Sobernheims (39) und Klingers (5), die zu Gunsten des angegebenen Verfahrens schwer ins Gewicht fallen, und am beredtesten spricht wohl der Umstand, daß die meisten der Typhusbekämpfungsstationen in Südwestdeutschland (9 von 11)*), darunter diejenigen zu Trier (40) und Idar (41), sich seiner mit zufriedenstellendem Erfolge bedienen. Bei dieser Art des Vorgehens kommt auch nicht in Betracht, daß die von Loeffler für charakteristisch angesehene Entfärbung des Malachitgrünnährbodens durch den Typhusbacillus von Neumann**) (42) und Királyfi***) (43) nicht hat als solche bestätigt werden können; nur muß man sich die Verzögerung der Diagnose um 24 Stunden gefallen lassen, denn die von Reischauer, sowie neuerdings von Peabody und Pratt (44) versuchte Zusammenziehung beider Prozeduren in eine, d. h. der Zusatz des Grüns an Stelle des Kristallvioletts zum Drigalski-Conradi-Agar, hat nach dem eigenen Urteil der Untersucher keine brauchbaren Resultate ergeben. Als ein zweiter Nachteil des Verfahrens muß in Kauf genommen werden, daß das Ausbleiben einer Schädigung auch des Typhusbacillus durch das Malachitgrün in der zur Hemmung des Bacterium coli notwendigen Konzentration nicht über jeden Zweifel erhaben ist (Lubenau [37], Nowack†) [45]). In jüngster Zeit hat dann Loeffler über eine weitere Vervollkommnung seiner Malachitgrünnährböden berichtet, doch ist unseres Wissens eine Nachprüfung derselben noch nicht vollzogen.

Dies ist in kurzen Worten der gegenwärtige Stand der Frage nach einem zur Auffindung des Typhusbacillus geeigneten Nährboden, ein nicht zum ersten Male gezeichnetes Bild, das wir uns nur aus dem Grunde nochmals aufzurollen erlaubt haben, um daraus die Ueberzeugung hervorgehen zu lassen, daß das Streben nach einer Verbesserung der Methodik bei aller Anerkennung der in den letzten Jahren gemachten Fortschritte noch immer nicht der Berechtigung entbehrt. Und wohl ebensowenig wird man sich der Berechtigung nachstehender aprioristischen Erwägungen, von denen die Referenten betreffs der an geeigneten Nährböden zu stellenden Ansprüche ausgegangen sind, verschließen können. Da wir eine chemische Substanz, deren Zusatz von allen ausgesäten Keimen nur den Typhusbacillus aufgehen läßt, noch nicht kennen und es kaum wahrscheinlich ist, daß eine solche existiert, so ist für die Erkennung der Typhuskolonieen eine Farbenreaktion unentbehrlich. Solcher Farbenreaktionen gab es bisher in der Hauptsache zwei, doch war diejenige des Drigalski-Conradischen Verfahrens nicht immer hinreichend scharf und bei künstlicher Beleuchtung überhaupt nicht erkennbar; diejenige des Endoschen zwar sehr viel deutlicher, aber zu Gunsten des Bacterium coli, in dessen Farbenhof die Typhuskolonieen oft völlig verschwanden (Kutscher [20], Hammerschmidt††) [46]). Nun kommt es aber für die Praxis nicht darauf an, aus einem Gemisch farblos bleibender oder leicht nüancierter Kolonieen

*) Zit. nach Simon (16), l. c. p. 229.
**) l. c. p. 9.
***) l. c. p. 372 u. 374.
†) l. c. p. 395 (Zusammenfassung).
††) l. c. p. 749.

diejenigen des Bacterium coli herauszufinden, sondern gerade umgekehrt erschien es und im höchsten Grade erstrebenswert einen Nährboden herzustellen, auf dem anstatt der Coli- die Typhus- (oder wenigstens die typhusverdächtigen) Kolonieen durch eine vom Grundton abstehende Färbung ins Auge fielen. Und diese Reaktion läßt sich in der Tat erreichen, wenn man als koloristisches Agens an Stelle des Fuchsins (salzsauren Rosanilins) den verwandten Farbstoff Säurefuchsin (auch als Fuchsin S bezeichnet) wählt, der eine Sulfosäure des Rosanilins darstellt. Es ist nämlich die charakteristische Eigenschaft einer Reihe von Bakterien, diesen Stoff in verhältnismäßig kurzer Zeit (12—24 Stunden) zu entfärben, wie dies schon Rothberger*) (47) gelegentlich systematischer Untersuchungen beobachtet hat. Zu der gekennzeichneten Bakteriengruppe gehören auch der Typhusbacillus und das Bacterium coli, die hierin, wie in so vielen anderen Stücken, sich gleichartig verhalten. Doch gibt glücklicherweise die hervorstechendste — und darum immer wieder benützte — Sondereigenschaft des Bacterium coli, Milchzucker unter Säurebildung zu zersetzen, auch hierbei den Ausschlag, indem durch die entstehende Säure die rote Farbe wiederhergestellt bezw. die Entfärbung verhindert wird. Den Chemismus dieses Vorganges sind wir nicht in der Lage, mit Sicherheit angeben zu können, doch erscheint es uns nicht wahrscheinlich, daß es sich nur um ein Wechselspiel von Säure und Alkali handelt. Denn wenn auch eine Lösung von Säurefuchsin durch starke Alkalien entfärbt wird, so erwiesen sich doch geringere Grade von Alkali hierfür nicht als ausreichend, unsere Nährböden z. B., welche ausgesprochen lackmusalkalisch (0,75-proz. Normalnatronlauge entsprechend) eingestellt waren, behielten selbst bei tagelangem Aufenthalte im Brutschrank ihre prachtvoll rote Farbe unverändert. Andererseits gehört es unseres Wissens nicht zu den Eigentümlichkeiten des Typhusbacillus auf einem 1-proz. Pepton-Fleischwasseragar in so erheblichem Maße Alkali zu bilden. Zwar hat Hellström**) (48) nachgewiesen (und auch v. Drigalski und Conradi stützen sich, ohne indes näher darauf einzugehen, auf diese Eigenschaft), daß Typhusbacillen unter Umständen aus N-haltigen Stoffen Alkali zu bilden imstande sind. Boit***) (49) hingegen berichtet in seiner Monographie, daß er bei Wachstum des Tyhusbacillus in Lackmusmolke nur sehr selten alkalische Reaktion angetroffen habe und meist eine Verunreinigung des Mediums durch Alkalibildner dafür verantwortlich zu machen sei. Die genauesten Aufklärungen über diese Beziehungen verdanken wir den erwähnten, im Rubnerschen Institute ausgeführten Untersuchungen Hellströms; und aus diesen geht mit Sicherheit hervor, daß von einer Alkalibildung durch den Typhusbacillus, unter den bei unseren Versuchen in Betracht kommenden Verhältnissen keine Rede sein kann. Impfte der genannte Forscher nämlich einen aus Kalbfleisch hergestellten Pepton (1 Proz.)-Kochsalz(0,5 Proz.)-Milchzucker(2 Proz.)-Agar mit Typhusbacillen, so trat bei einer mehr oder minder stark alkalischen Reaktion und einer Temperatureinwirkung von 38° — also genau den gleichen Verhältnissen wie in unserer Versuchsanordnung — in den ersten Tagen sogar eine deutliche Säuerung des Nährbodens ein. Zum Beweise sei es uns gestattet, zwei von Hellströms Tabellen hier wiederzugeben:

*) l. c. p. 116.
**) l. c. p. 48—49.
***) l. c. p. 45.

ad I. *Bei schwach alkalischer Reaktion.*

Nach Tagen	1	2	3	4	5	6	7	8	9		40	40
0,3 alk.	0,7 s.	0,9 s.	0,9 s.	0,8 s.	0,6 s.	0,3 s.	0,2 s.	0,1 s.	± 0		± 0	0,6 alk.

ad II. *Bei stärker alkalischer Reaktion.*

Nach Tagen	1	2	3	4	5	6	7	8	9		30	40
1,4 alk.	0,3 s.	0,3 s.	0,2 s.	0,1	± 0	± 0	0,1 alk.	0,3 alk.	0,5 alk.		1,0 alk.	1,5 alk.

$^1/_{10}$ Normallösung.

Die Alkalibildung nach 9 wie mehr Tagen kommt natürlich für unsere Verhältnisse, wo es sich um 1—2 $\times$ 24 Stunden handelt, nicht in Betracht. Mithin war es nach diesen Untersuchungen im höchsten Grade unwahrscheinlich, daß an der Entfärbung des Säurefuchsinnährbodens etwa gebildetes Alkali schuld war, und man mußte daran denken, eine andere Eigenschaft der Bakterien als den Träger des Entfärbungsvermögens anzusprechen. Und zwar beruht dieses unseres Erachtens auf der Fähigkeit der nämlichen Mikroorganismen, *Nitrate*, die ja in unseren Fleischwassernährböden zumal nach Peptonbeigabe stets vorhanden sind, in *Nitrite* zu verwandeln. Denn:

Erstens konnten wir dieselbe *Entfärbung* des *Säurefuchsins* durch Zusatz von *Nitritlösung* nach längerer Einwirkung (von $^1/_2$ Stunde an) in Brüttemperatur und zwar sowohl bei schwach alkalischer, als bei *saurer Reaktion* beobachten;

zweitens konnten wir von *allen* von uns untersuchten *Bakterien*, die die Eigenschaft der *Säurefuchsinentfärbung* besaßen, auch das *Vermögen Nitrit zu bilden* mittelst der *Beijerinck*schen Methode*) (50) nachweisen.

Und zwar wurden geprüft:

Bacillus typhi (mehrere Stämme),
Bacillus paratyphi A und B,
Bacterium coli,
Bacillus faecalis alcaligenes,
Bacillus dysenteriae [Kruse] (mehrere Stämme),
Bacillus pseudodysenteriae A,
Bacillus pseudodysenteriae B (Flexner),
Bacillus pseudodysenteriae D,
Bacillus proteus vulgaris.

Vom Typhusbacillus wie *Bacterium coli* ist die Nitritbildung ja ohnehin zur Genüge bekannt (*Dieudonné***) [51]); für *Proteus vulgaris* außerdem noch durch die Arbeiten von *Maassen* (52) aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte nachgewiesen.

Auf Grund dieser Wahrnehmungen versuchten wir durch einen besonderen Nitratzusatz die Nitritbildung und somit die Entfärbung zu beschleunigen, ohne indessen damit wesentliche Unterschiede hervorzurufen. Zu den entfärbenden Mikroorganismen gehörte, wie schon erwähnt,

*) „Dieselbe beruht darauf, daß sich auf dem mit Nitrat und Stärke versetzten festen Nährboden die Kolonieen der nitratreduzierenden Bakterien mit einem nitrithaltigen Felde umgeben, in welchem das Nitrit dann — in Gegenwart von überschüssiger Säure — durch Jodkalium nachgewiesen wird.“ (*Günthers* Einführung in das Studium der Bakteriologie. p. 62.)

**) Ebenfalls zitiert nach *Günthers* Lehrbuch. p. 62.

auch das Bacterium coli; doch ließ sich dessen Tätigkeit ausschalten, wenn dem Nährboden Milchzucker zugesetzt wurde: Die alsdann entstehende Säure verhinderte die Entfärbung. Auch dieser Vorgang läßt sich im Reagenzglase darstellen; setzt man nämlich zu einer durch Nitrit bei alkalischer Reaktion entfärbten (urprünglich etwa weinroten) Säurefuchsinlösung eine Säure zu, so tritt wieder Rotfärbung ein, die aber bei überschüssigem Säurezusatz wieder verschwindet, während die Säurefuchsinlösung an sich durchaus säurebeständig ist. Wir glauben hieraus schließen zu dürfen, daß unter dem Einfluß der Säure sich nicht die ursprüngliche Farbe wiederherstellt, sondern ein neuer roter Farbstoff bildet.

In praktischen Gebrauch genommen, d. h. mit Stühlen vor und nach Typhuszusatz beschickt, bewährte sich der Säurefuchsinagar auf das beste. Der Unterschied zwischen Typhus- und Coli-Kolonieen kann überhaupt nicht augenfälliger gedacht werden und zwar sind es nicht, wie beim Endo-Agar die Coli-Kolonieen, die durch Eigenfarbe hervortreten, sondern diejenigen des Typhusbacillus, welche nach 12—24 Stunden als helle Sterne auf purpurnem Grunde sich abzeichnen. Und dasselbe Bild zeigte sich, wenn den Faecesaufschwemmungen statt der Typhus-, die oben bezeichneten Dysenterie- oder Pseudodysenteriebacillen beigemischt wurden, zu deren Aufsuchung der Nährboden also ebenfalls geeignet ist. Daß auf dem dunklen Agar nur die entfärbenden (das sind unseres Erachtens die nitritbildenden) Bakterienarten in auffallende Erscheinung treten, der Kreis um die gesuchten pathogenen Keime mithin weit enger gezogen ist, als sonst, glauben wir als einen ferneren wesentlichen Vorzug unseres Nährbodens ansprechen zu dürfen. Uebrigens gingen beim Ausstreichen normaler fester Stühle fast nur rote (größtenteils Coli-, daneben auch Kokken-) Kolonieen auf; bei diarrhoischen Stühlen machen sich allerdings manchmal andere, namentlich Proteus-Kolonieen, die ja dem Gesagten zufolge ebenfalls entfärben, störend bemerkbar.

Diese Wahrnehmung veranlaßte uns, weitere Zusätze zu dem Nährboden zu versuchen, um entweder die Proteus-Kolonieen zurückzuhalten oder sie zur Säurebildung zu veranlassen, wodurch die Entfärbung, wie beim Bacterium coli, verwischt worden wäre. Nach Segin*) (53) soll der Bacillus proteus aus Raffinose Säure zu bilden imstande sein, indessen bewährte er in unseren Versuchen diese Eigenschaft nicht, oder wenigstens nicht in ausreichendem Grade. Und da uns ein anderes Kohlehydrat, dessen Zerlegung unter Säurebildung des Bacillus proteus nicht mit dem Typhusbacillus geteilt hätte, unbekannt war, so gingen wir zu Versuchen mit dem Loefflerschen Malachitgrün über, das ja in dem Rufe stand, bei relativer Unschädlichkeit für den Typhusbacillus andere Keime, insbesondere die Proteus-Arten, zurückzuhalten. Dabei konnten wir zunächst feststellen, daß unter dem Malachitgrünzusatz weder die prachtvoll rote Farbe des Nährbodens, noch die Entfärbungsreaktion Schaden litt. Im Gegenteil, Loeffler**) (29) hat angegeben, daß auch das Malachitgrün durch den Typhusbacillus entfärbt wird, und die Bildung alkalischer Stoffwechselprodukte zur Erklärung für diese Erscheinung herangezogen. Diese Beobachtung Loefflers bezieht sich zwar, wenn wir recht verstanden haben, auf stark eiweiß-(Nutrose)haltige Nährböden; trotzdem scheinen uns für eine so erhebliche Alkalibildung durch den Typhusbacillus keine genügenden Beweise vor-

*) l. c. p. 209.
**) l. c. p. 291.

zuliegen. Wir versuchten daher, ob nicht auch Nitrite denselben entfärbenden Einfluß auf Malachitgrünlösungen hätten. Und dies war in der Tat der Fall: Das Nitrit entfärbte nicht bloß in alkalischer Lösung weit stärker als reines Alkali, sondern auch in intensiver Weise bei saurer Reaktion. Maßgebend war auch für diese Versuche eine mehrstündige Einwirkung bei Brüttemperatur. Bei dieser Auffassung ist es auch nicht verwunderlich, daß Királyfi*) (43) sehr starke Entfärbung des Malachitgrünnährbodens durch Bacterium coli zu beobachten Gelegenheit hatte.

Das benützte Malachitgrünpräparat war von Grübler bezogen und von dieser Firma als Malachitgrün Höchst Fabrikmarke Ia bezeichnet. Der Zusatz dieses Präparates zu unserem Nährboden geschah in der Konzentration von 1:3000. Dies war nicht etwa eine Grenze, die alle anderen Keime mit Sicherheit unterdrückte, den Typhusbacillus aber unbeschädigt ließ. Eine solche wurde für das vorliegende Präparat überhaupt nicht gefunden, vielmehr können wir Lubenau (37) nur durchaus recht geben, wenn er behauptet, daß auch das Malachitgrün für den Typhusbacillus in den üblichen Verdünnungen kein indifferenter Stoff ist, und uns den übereinstimmenden Beobachtungen von Neumann (42), Doebert (54) und Nowack (45) anschließen, denen zufolge die einzelnen Typhusstämme verschieden empfindlich sind. Allerdings müssen wir hervorheben, daß sich unsere Erfahrungen nur auf ein bestimmtes Präparat beziehen, und wir müssen diese Einschränkung um so eher machen, als dasselbe in unseren Versuchen ganz andere Werte, wie in denen von Jorus (der Konzentrationen von 1:10000 noch wirksam fand) geliefert hat. Daraus gehen für uns 2 Forderungen hervor: Theoretisch, daß die Malachitgrünpräparate unter sich noch sehr verschieden sind und deren Studium die Aufgabe weiterer Versuche sein muß; praktisch, daß wir jedem, der unseren Säurefuchsinagar nachprüfen will, den Rat geben müssen, das ihm vertraute Malachitgrünpräparat in der gewohnten Stärke — oder besser noch in einer etwas geringeren — zuzusetzen, und sich eventuell durch Probeausstriche zu überzeugen, daß der Typhusbacillus darauf noch gut wächst. Das ist derselbe Schluß, zu dem in einer während der Niederschrift dieser Zeilen erschienenen Arbeit auch Peabody und Pratt**) (44) kommen, während Leuchs (56) früher Versuche mit technisch reinen Präparaten empfohlen hat, indem er ihre Ungleichartigkeit auf die Schwankungen im Dextringehalt zurückführte. Nun ist ja ein weiterer großer Vorzug unseres Nährbodens der, daß man gar nicht nötig hat, mit dem Malachitgrünzusatz bis auf die äußerst zulässige Stärke hinaufzugehen. Es kommt ja gar nicht etwa darauf an, alle Coli-Keime zu vernichten. Im Gegenteil, wenn auch deren noch so viel auf der Platte auswachsen, so werden doch selbst kleine Typhuskolonieen vermöge ihres hellen Entfärbungshofes nicht unbemerkt bleiben. Der Malachitgrünzusatz soll vielmehr nur dazu dienen, die Proteus-Arten und einzelne Saprophyten mit Entfärbungsvermögen zurückzuhalten, um so die Zahl der in differentialdiagnostisch in Betracht kommenden Kolonieen auf das äußerste einzuschränken. Dies wurde in unserem Falle durch die angegebene Konzentration von 1:3000 erreicht, ohne daß einer der untersuchten Typhusstämme Schaden gelitten hätte.

Für die Untersuchung auf Dysenterie bezw. Pseudodysenterie, oder für die Fälle, wo bei dringendem Verdacht auf Typhus (Paratyphus)

*) l. c. p. 374.
**) l. c. p. 557.

keine Bacillen gefunden werden und man annehmen muß, daß etwa nur vereinzelte und geschwächte Exemplare vorhanden sind, die durch das Malachitgrün auch in geringeren Konzentrationen geschädigt werden könnten (Nowack*) [45]), geben wir den Rat, es überhaupt wegzulassen. Man muß dann den kleinen Nachteil mit in Kauf nehmen, daß gelegentlich auch andere helle Kolonieen auftauchen, die sich aber unschwer von denen der gesuchten pathogenen Keime unterscheiden lassen. Oft wird auch das kaum vorkommen, denn wie wir oben gezeigt haben, ist der Kreis der typhus- (oder dysenterie-)ähnlichen Kolonieen ohnehin enger gezogen, als bei den anderen auf Färbungsreaktionen beruhenden Verfahren.

Für den Fall des Malachitgrünzusatzes ist als einzigstes noch die Reaktion des Nährbodens zu erachten. Dieselbe ist auf die Wirksamkeit des Malachitgrüns von großem Einfluß, wie dies zuerst von Klinger mit Recht betont worden ist. Wir müssen auf Grund des in nachstehender Tabelle angegebenen Versuches die Worte Nowacks**) (45) (aus dem Rubnerschen Institute): „Stärker alkalische Reaktion begünstigt das Wachstum der Typhusbacillen mehr und verhindert das Auswachsen

Ausstrich in der Mitte der Platte auf Säurefuchsinagar (5 ccm einer konzentrierten wässerigen Lösung zu 100 ccm Agar) mit Zusatz von Malachitgrün.

	Nach 24 Stunden			
	1:5000		1:3000	
	alkalisch	neutral	alkalisch	neutral
Typus I	Gut gewachsen; stark entfärbt	Gewachsen; nicht entfärbt	Gut gewachsen; stark entfärbt	Gut gewachsen; Spur entfärbt
Typus II	Gut gewachsen; stark entfärbt	Gewachsen; nicht entfärbt	Gut gewachsen; ziemlich gut gefärbt	Gewachsen; Spur entfärbt
Typus III	Gut gewachsen; stark entfärbt	Gewachsen; mäßig entfärbt	Gut gewachsen; sehr stark entfärbt	Gut gewachsen; stark entfärbt
Proteus	Gewachsen; Spur entfärbt	Gewachsen; nicht entfärbt	Gewachsen; Spur entfärbt	Gewachsen; kaum entfärbt
Coli	Nicht gewachsen	Rot gewachsen	Nicht gewachsen	rot, schwach gewachsen

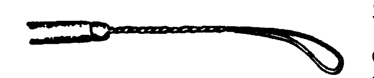
	Nach 48 Stunden			
	1:5000		1:3000	
	alkalisch	neutral	alkalisch	neutral
Typus I	Ganze Platte hell	Gut gewachsen; stark entfärbt	Ganze Platte hell	Gut gewachsen; stark entfärbt
Typus II	Ganze Platte hell	Gut gewachsen; stark entfärbt	Ganze Platte hell (bis auf 1 cm breiten Rand)	Gut gewachsen; ziemlich gut entfärbt
Typus III	Ganze Platte hell	Gut gewachsen; stark entfärbt	Ganze Platte hell	Gut gewachsen; sehr stark entfärbt
Proteus	Großer Teil der Platte hell	Gut gewachsen; stark entfärbt	Großer Teil der Platte hell	Gut gewachsen; stark entfärbt
Coli	Spur gewachsen	Rot gewachsen	Nicht gewachsen	Rot gewachsen

*) l. c. p. 395.
**) l. c. p. 388.

der Coli-Bacillen besser, als lackmusneutrale" wörtlich unterschreiben, im Gegensatz zu Doebert (54), der (gleichfalls im Rubnerschen Institute) gefunden hat, daß „je stärker alkalisch der Nährboden, desto schwächer die hemmende Wirkung des Malachitgrüns" ist. Offenbar handelt es sich — und auch weitere der von uns ausgeführten Versuche sprechen dafür, um eine Alkalitätsschwelle, die weder nach der einen, noch nach der anderen Seite überschritten werden darf.

In der Praxis hätte sich die Herstellung des Nährbodens folgendermaßen zu gestalten:

Man hält sich am besten neutralen 3-proz. Fleischwasseragar in kleinen Portionen (zu etwa 200 ccm) abgefüllt vorrätig. Zum Gebrauch erhitzt man eine oder mehrere derselben, überzeugt sich, daß die Reaktion noch neutral ist, alkalisiert zweckmäßigerweise erst jetzt, weil vorher die alkalische Reaktion beim Sterilisieren Einbuße erleidet. Eine etwaige geringe Trübung des Mediums hat nichts zu bedeuten. Der geeignetste Alkaleszenzgrad wurde in unseren Versuchen durch Zusatz von 0,75-proz. Normalnatronlauge (nicht, wie sonst üblich, Normalsodalösung) nach Einstellung auf Lackmusneutralität erreicht. Alsdann setze man zu dem verflüssigten Agar 5 Proz. Milchzucker und erhitze so lange im Wasserbade, bis dieser vollständig gelöst ist. Zum Schluß setze man das Säurefuchsin (5 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung zu 100 ccm Agar) und das Malachitgrün (Ia) (4 ccm einer Normallösung von 1 : 120) hinzu und gieße in Drigalski-Schalen. Diese kommen nach dem Erstarren auf mindestens 24 Stunden im Brutschrank, wo sich das Kondenswasser verliert. Ein Wachstum saprophytischer Keime ist nicht zu befürchten. Arbeitet man mit Säurefuchsinagar ohne Malachitgrünzusatz, so empfiehlt es sich, das Säurefuchsin zugleich mit dem Milchzucker zuzusetzen, um es wenigstens kurze Zeit mitzuerhitzen. Auch dann kommt eine Verunreinigung der Platten kaum vor und sind solche eventuell nach dem Stehenlassen im Brutschrank auszurangieren. Die Stammlösungen des Säurefuchsins (konzentriert wässerig) und des Malachitgrüns (wir benutzten eine solche 1 : 120, von der ausgehend wir am leichtesten verschiedene Verdünnungen herstellen konnten) sind vorrätig zu halten; Filtration der Farbstoffe unnötig. Zu beachten ist aber, daß in unseren Versuchen, ebenso wie in den erwähnten von Rothberger Grüblersches Säurefuchsin benutzt wurde; Erzeugnisse anderer Firmen, die wir zu prüfen Gelegenheit hatten, gaben die erforderliche Reaktion nicht (!). Zum Ausstrich der Fäkalmassen, von denen wir erbengroße Stücke in einigen Kubikcentimetern Kochsalzlösung oder Bouillon aufschwemmten, bewährte sich uns besser, als der v. Drigalskische Glasstab, der nach dem Ausglühen nur sehr langsam abkühlt, und als der Krusesche Platinpinsel, der an die Festigkeit des Untergrundes große Ansprüche stellt, eine ca. 15 mm lange und 3 mm breite Schlinge aus nicht zu dünnem Platindraht, die nach Art der Stromabnehmer bei manchen elektrischen Bahnen mit Oberleitung gebogen war.



Der Ausstrich erfolgt seitlich, d. h. senkrecht zur Längsachse. Man kann mit diesem Instrument die peripheren Teile der Platte leicht erreichen und so den vorhandenen Raum auf das beste ausnutzen. Nach 12–24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank erscheinen dann die verdächtigen Kolonieen als helle Punkte; nach 48 Stunden ist die Entfärbungsreaktion noch weiter fortgeschritten; was später geschieht, ist nicht mehr maßgebend. Zur Identifizierung der

fraglichen Kolonieen müssen natürlich, wie auch bei allen anderen Verfahren, die geeigneten diagnosrischen Hilfsmittel herangezogen werden, auf die näher einzugehen hier nicht der Ort ist. Als Vorteile des von uns empfohlenen Nährbodens glauben wir ansehen zu dürfen:

1) Denkbar einfachste und bequemste Herstellung;
2) größte, bei jeder Beleuchtung hervortretende Deutlichkeit der Farbenreaktion;
3) Beschränkung der typhus- (bezw. dysenterie-)ähnlichen Kolonieen auf einen kleinen Kreis von Bakterienarten;
4) die Möglichkeit, die Färbungsreaktion unmittelbar mit dem Loefflerschen Malachitgrün kombinieren zu können und dadurch die zeitraubende Vorkultur entbehrlich zu machen;
5) die Ueberflüssigkeit einer mikroskopischen Durchsicht der Platte, da sich auch kleine Typhuskolonieen durch den hellen Entfärbungsring in vergrößertem Maßstabe geltend machen.

In der Gleichartigkeit des Wachstums von Typhus oder Paratyphus können wir einen Nachteil nicht erblicken, da vom epidemiologischen Standpunkte aus beide Krankheiten gleich zu bewerten sind und die engere Unterscheidung ruhig den Spezialuntersuchungen überlassen bleiben darf.

Zum Schlusse dieser Besprechung haben wir noch verschiedenen Dankespflichten zu genügen: In erster Linie gegenüber unserem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. Leo, für das unseren Versuchen entgegengebrachte große Interesse, nicht minder Herrn Geheimrat Finkler für den gestatteten Zutritt zu seiner Privatbibliothek, Herrn Prof. Kruse für die Ueberlassung von Kulturen und Herrn Geheimrat Flügge für die Erlaubnis zur Benutzung der Bibliothek des hygienischen Institutes während unseres Aufenthaltes in Breslau.

Literatur.

1) Wurtz, Arch. de méd. expér. et d'anat. path. T. IV. 1892. p. 85.
2) v. Drigalski u. Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweise der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. p. 283.)
3) Krause, Sitzung der med. Sektion der Schles. Gesellsch. f. vaterländ. Kultur. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1904. p. 250.
4) — u. Stertz, Ein Beitrag zur Typhusdiagnose aus dem Stuhle mittelst des v. Drigalski-Conradischen Verfahrens. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903. p. 469.)
5) Klinger, Ueber neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. (Arbeit. aus dem kais. Gesundheitsamte. Bd. XXIV. p. 35.)
6) Lipschütz, Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis mit Hilfe des Drigalski-Conradischen Verfahrens und der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. No. 6. p. 798.)
7) Musehold, Zur Bekämpfung des Typhus. (Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. 1902. Augustheft. p. 579.)
8) Vourloud, Cultures du Bactérium typhi, du Bact. coli et de quelques autres bactéries rapprochées du groupe coli-typhique sur milieu de Drigalski-Conradi. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 754.)
9) Czaplewski, Demonstration zur Technik der Typhusdiagnose. [Vortrag, gehalten auf der Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin, 1906.] (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. Anhang. p. 61.)
10) Petkowitsch, Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 304.)
11) Marschall, Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 347.)
12) Endo, Ueber ein Verfahren zum Nachweise der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 109.)
13) Scheller, Diskussionsworte auf der Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin, 1906. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Ref. Bd. XXXVIII. Anhang. p. 62/63.)

14) Müller, Diskussionsworte auf der Tagung der freien Vereinigung der Mikrobiologie in Berlin, 1906. (Ibid. Bd. XXXVIII. Anhang. p. 62/63.)
15) Bock, Zur Typhusdiagnose. (Arb. aus dem kais. Gesundheitsamte. Bd. XXIV. p. 227.)
16) Simon, Erfahrungen mit dem v. Drigalski-Conradischen Milchzuckeragar bei der Typhusbekämpfung. (Klin. Jahrb. Bd. XVII. 1907. Heft 2.)
17) Clauditz, Untersuchungen über die Brauchbarkeit des von Endo empfohlenen Fuchsinagars zur Typhusdiagnose. (Hyg. Rundschau. Bd. XIV. p. 723.)
18) Herberich, Inaug.-Diss. Würzburg 1904. Zit. nach Reischauer (33). l. c. p. 116).
19) Ruata, Das Verfahren von Endo zur Differenzierung des Bacillus von Eberth vom Coli-Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 576.)
20) Kutscher, Abdominaltyphus. (Kolle-Wassermanns Handb. Ergänzungband. p. 241—242.
21) Fürntratt, Ueber einige Eigenschaften des Endoschen Fuchsinagars. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. p. 487.)
22) Conradi, Ein Verfahren zum Nachweis der Typhuserreger im Blut. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 2. p. 58.) — Ueber Züchtung von Typhusbacillen aus dem Blute mittelst der Gallenkultur. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 34.) — Zur bakteriologischen Frühdiagnose des Typhus. (Ibid. No. 49.)
23) —, Ueber Züchtung von Typhubacillen aus dem Blut mittels der Gallenkultur. [Vortrag, gehalten auf der Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin, 1906.] (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXVIII. p. 55/56.)
24) Kayser, Ueber die einfache Gallenröhre als Anreicherungsmittel und die Bakteriologie des Blutes bei Typhus und Paratyphus. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 17. p. 823.) — Zur Frühdiagnose und Bakteriologie des Typhus sowie Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Org. Bd. XLII. p. 185.)
25) Meyerstein, Ueber Typhusanreicherung. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 38.) — Zur Frühdiagnose des Typhus. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 44.)
26) —, Ueber die bakteriologische Bedeutung der Gallensalze. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. p. 434.)
27) Roth, Versuche über die Einwirkung des Trimethylxanthins auf das Bact. typhi und coli. (Hyg. Rundsch. Bd. XIII. 1903; Arch. f. Hyg. Bd. XLIX.)
28) Loeffler, Deutsche med. Wochenschr. 1903. Vereinsbeilage. No. 36.
29) —, Zum Nachweise und zur Differientialdiagnose der Typhusbacillen mittels der Malachitgrünnährböden. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 8.)
30) —, Vortrag gehalten auf dem Kongresse für Hygiene und Demographen, Berlin, Sept. 1907. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 39.)
31) Ficker u. Hoffmann, Ueber neuere Methoden des Nachweises von Typhusbacillen. (Hyg. Rundschau Bd. XIV. 1904; Arch. f. Hyg. 1904.)
32) v. Jacksch u. Rau, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im fließenden Moldauwasser etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 584.)
33) Reischauer, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen in den Darmentleerungen mit Verwendung der neueren Untersuchungsmethoden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. p. 116.)
34) Kloumann, Beitrag zur Frage der Wirkung des Kaseins auf Typhus- und Colibakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 312.)
35) Courmont u. Lacomme, Journ. de physiol. et de pathol. générale. 1904. No. 2; ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXVI. p. 184.)
36) Gaethgens, Ueber die Erhöhung der Leistungsfähigkeit des Endoschen Fuchsinagars durch den Zusatz von Koffein. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. p. 634.
37) Lubenau, Das Koffeinanreicherungsverfahren zum Typhusnachweis im Stuhl. (Arch. f. Hyg. Bd. LXI. 1907.)
38) Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungsmethode für Typhus- und Paratyphusbacillen. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 49.)
39) Sobernheim, Erfahrungen mit den neueren Methoden der bakteriologischen Typhusdiagnose. [Vortrag, gehalten auf der 3. Hauptversammlung des Deutschen Medizinalbeamtenvereins zu Danzig.]
40) Vierteljahrsschrift der bakteriologischen Untersuchungsanstalt Trier (1. Juli bis 30. Sept. 1906. p. 5.)
41) Vierteljahrsschrift der bakteriologischen Untersuchungsanstalt Idar (1. Juli bis 30. Sept. 1906. p. 4.)
42) Neumann, Ueber die Untersuchung von Typhusstühlen mittelst Malachitgrünnährboden. (Arch. f. Hyg. Bd. LX.)
43) Királyfi, Ueber den Wert der Malachitgrünnährböden zur Differenzierung der Typhus- und Colibacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. p. 276 und 371.)

44) Peabody u. Pratt, Ueber den Wert von Malachitgrünnährböden zur Differenzierung von Typhus- und Colibacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. p. 550.)
45) Nowack, Ueber die Grenzen der Verwendbarkeit des Malachitgrünagars zum Nachweise der Typhusbacillen im Stuhl. (Arch. f. Hyg. Bd. LIII. p. 374.)
46) Hammerschmidt, Ein Beitrag zur Typhusdiagnose aus Faeces. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 747.)
47) Rothberger, Differentialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. p. 72.)
48) Hellström, Zur Unterscheidung des Bacillus typhi abdominalis vom Bacterium coli commune. Eine biologische Studie. (Aus d. hyg. Inst. d. Univers. Berlin. 1892. L. Schumacher.)
49) Boit, Einfache und sichere Identifizierung des Typhusbacillus. Jena (G. Fischer) 1905.
50) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 58. Zit. nach Günthers Lehrbuch. p. 62.
51) Dieudonné, Arb. aus dem kais. Gesundheitsamte. Bd. XI. Zit. nach Günthers Lehrbuch. p. 62.
52) Maassen, Die Zersetzung der Nitrate und Nitrite durch die Bakterien. (Arb. aus dem kais. Gesundheitsamte. Bd. XVIII.)
53) Segin, Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 202.)
54) Doebert, Wachstum von Typhus- und Coli-Reinkulturen auf verschiedenen Malachitgrünnährböden. (Arch. f. Hyg. Bd. LIX. p. 370.)
55) Jorus, Ueber die Brauchbarkeit des Malachitgrünnähragars zum Nachweise von Typhusbacillen. (Hyg. Rundschau. 1904. No. 15. p. 713.)
56) Leuchs, Ueber Malachitgrünnährböden zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1330.)
57) Fürth, Ueber den Wert des Leuchsschen Malachitgrünagars zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVI p. 81.) — Zugefügt bei der Korrektur.

Zur Technik der sterilen Filtration.

[Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt.]

Von Dr. med. **O. Weidanz,**
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Mit 5 Figuren.

Die Antisera für forensische Blut- und Fleischuntersuchungen werden seitens des Kaiserlichen Gesundheitsamts auf Grund der Erfahrungen von Uhlenhuth ohne konservierenden Zusatz im flüssigen Zustande abgegeben. Es ist daher notwendig, die Antisera steril zu filtrieren.

Nach der früher von uns angewandten Methode (Fig. 1) wurde in eine Saugflasche, die mit einer Berkefeldschen Kieselgurkerze (*a*) mittelst eines Gummistopfens in Verbindung stand, ein steriles Reagenzglas gestellt, in welches das Serum nach der Filtration hineintropfte. Hierauf wurde dann nach Abnehmen des Gummistopfens das Reagenzglas mit einer sterilen Pinzette herausgenommen und mit einem abgebrannten Wattebausch verschlossen. Ehe das Filtrat in kleine Röhrchen, wie wir sie für die Abgabe benutzen, abgefüllt werden konnte, mußte es, um festzustellen, ob es vollständig klar blieb, mehrere Tage bei Zimmertemperatur in den großen Reagenzgläsern stehen bleiben. Trübte sich der Inhalt, so wurde die Filtration widerholt; blieb das Serum dagegen klar, so wurde es mit einer sterilen Pipette in kleine braune Röhrchen zu 1 ccm abgefüllt. Die mit Watte verschlossenen Röhrchen wurden abermals einige Tage bei Zimmertemperatur auf-

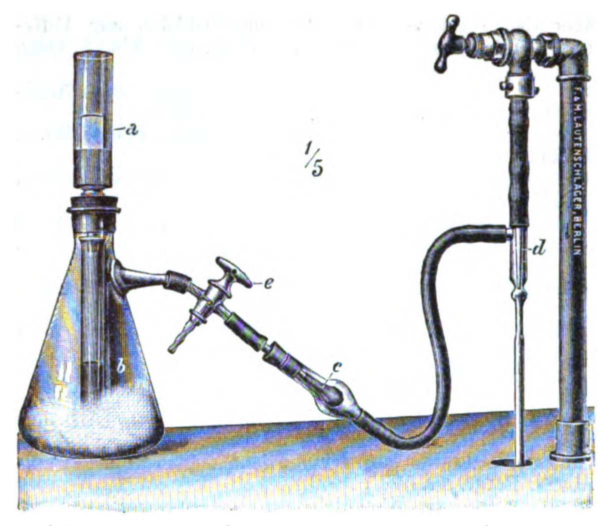


Fig. 1. Alte Methode der sterilen Serumfiltration.

bewahrt, war ihr Inhalt klar geblieben, so wurden sie über der Flamme zugeschmolzen. Die angegebene Filtration hatte den Nachteil, daß das sterile Filtrat nachträglich leicht verunreinigt werden konnte, und zwar sowohl bei der Herausnahme des Reagenzglases aus der Saugflasche als auch beim Abfüllen des Serums in die einzelnen Röhrchen.

Um diese Nachteile zu vermeiden, ist von Geh. Reg.-Rat Prof. Uhlenhuth und mir ein besonderer Apparat (Fig. 2) konstruiert, der im wesentlichen eine Kombination des Bakterienfiltrierapparats von Maaßen und des Lymphabfülltrichters (Modell der Königl. Preuß. Anstalten zur Gewinnung animalischer Lymphe) darstellt.

Die Filtrierabfüllvorrichtung[1]) besteht aus der Berkefeldschen Kerze (*a*), die mittelst eines Gummistopfens auf der Saugflasche (*b*) angebracht ist. Das zu einer Röhre ausgezogene untere Ende ist graduiert. Die Saugflasche zeigt unter dem Hals ein Ansatzrohr, das mit einer Kugel behufs Aufnahme von Watte versehen ist und steht mit der Wasserstrahlpumpe (*d*) in Verbindung. Um ein Eindringen von Wasser in die Saugflasche zu vermeiden, ist das Rückschlagventil (*c*) eingeschaltet. Zur Regulierung des Luftdruckes in die Saugflasche dient der Dreiwegehahn (*e*). Um die beim Oeffnen des Dreiwegehahns einströmende Luft keimfrei zu erhalten, wird in die Kugel am Ansatz der Saugflasche Watte gesteckt. Außerdem befindet sich in der Glaskugel noch eine zweite kleinere Glaskugel mit nach hinten gerichteten Oeffnungen, die ein direktes Einströmen der Luft in die Saugflasche verhindern. Der Abfüllhahn (*f*) ist mit einer umschmolzenen Hülle versehen und zeigt eine glockenförmige Erweiterung, die es gestattet, einen Bausch Watte einzuführen, der die Drehung des Hahnes nicht hindert, wohl aber ein Eindringen etwaiger Keime verhindern soll. Mit dem Abfüllhahn steht das genau graduierte Röhrchen (*h*), das oben zur Aufnahme von Watte zu einer Kugel ausgezogen ist, in Verbindung. Außerdem ist der Abfüllhahn noch so eingerichtet, daß auch mit Umgehung des Röhrchens (*h*) das Filtrat direkt abgefüllt werden kann. Das Abflußrohr (*g*) ist von einer angeschmolzenen Glasglocke umgeben; sie hat den Zweck, einmal durch Verschließen der Glasglocke mit Watte das Abflußrohr vor Infektion zu schützen und beim Abfüllen des sterilen Filtrats das Hineinfallen von Bakterien der Luft in die Abfüllröhrchen zu verhindern.

Mit dieser vor der Benutzung im Dampfapparat sterilisierten Filtrier-

1) Der Apparat ist in der Arbeit von Uhlenhuth, Hübner, Xylander und Bohtz, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest, Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXVII. 3, kurz beschrieben.

vorrichtung ist es möglich, das Filtrat steril in kleine Röhrchen abzufüllen.

Die Filtration wird nun in der Weise ausgeführt, daß, nachdem das zu filtrierende Serum in den Umhüllungszylinder der Berkefeldschen Kerze gegossen ist, die Saugpumpe langsam angestellt wird. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Dreiwegehahn (*e*) richtig eingestellt ist; es ist das der Fall, wenn der Knebel des Hahnes in der Richtung der

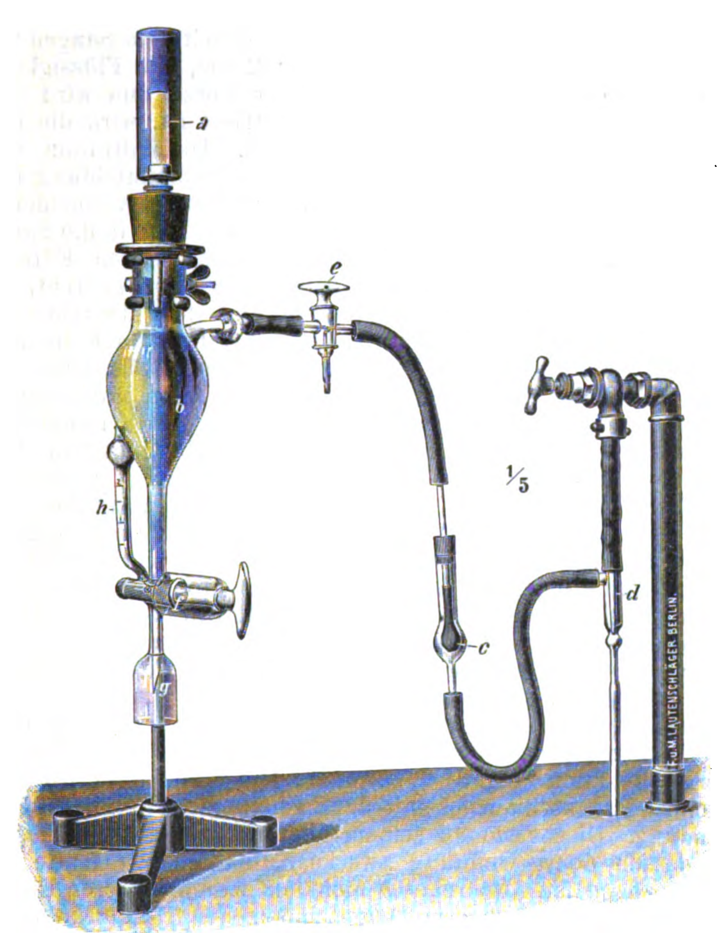


Fig. 2. Filtrierabfüllapparat nach Uhlenhuth und Weidanz.

beiden Ansatzröhren verläuft. Um die ersten Kubikzentimeter des Filtrats, die vorzugsweise aus dem Wasser bestehen, welches beim Auskochen und Sterilisieren der Kerze in derselben zurückgeblieben ist, zu beseitigen, muß die Saugpumpe (*d*) ausgeschaltet und die Differenz des Luftdruckes zwischen Saugflasche und atmosphärischer Luft wieder ausgeglichen werden, beides wird erreicht durch Drehung des Dreiwegehahnes um 90° nach rechts. Nachdem durch Oeffnen des Abfüllhahnes (*f*) das Wasser aus der Saugflasche entfernt ist, wird die Filtration wieder aufgenommen.

Ist die zu filtrierende Flüssigkeit in dem Umhüllungszylinder bis zu dem Metallansatz der Kerze gesunken, so wird, um restlos filtrieren zu

können, die Flüssigkeit mit einer zu einer Kapillare ausgezogenen Glasröhre aufgesaugt und auf die filtrierende Kerze geträufelt. Nach W. A. Schmidt kann man hierbei auch in der Weise verfahren, daß man den Glaszylinder bis zum oberen Rande des Metallansatzes der Kerze mit Glaskügelchen anfüllt und auf diese Weise die Flüssigkeit zum Steigen bringt. Ferner kann man auch zu diesem Zwecke über die Kerze ein Reagenzglas stülpen, das bis auf den Boden des Glaszylinders reicht. Durch die noch in dem Zylinder vorhandene Menge Flüssigkeit wird die Oeffnung des Reagenzglases abgeschlossen, es bildet sich bei weiterem Saugen zwischen Kerze und Reagensglas ein luftverdünnter Raum, die Flüssigkeit steigt infolgedessen, benetzt den porösen Teil der Kerze und wird fast vollständig aufgesaugt. Nachdem das Serum filtriert ist, wird die Filtration in der angegebenen Weise wieder abgestellt. Die Filtration unter zu hohem negativen Druck, die sich durch starke Schaumbildung kenntlich macht, ist mit Hilfe des Dreiwegehahnes (*e*) leicht zu vermeiden, indem man durch Drehen des Hahnes nach rechts etwas Luft in die Saugflasche einströmen läßt. Das quantitative Abfüllen des klaren Filtrats wird folgendermaßen ausgeführt: Der Abfüllhahn (*f*) wird so gedreht, daß eine Kommunikation zwischen der Saugflasche und dem Röhrchen (*h*) hergestellt wird, ist das erreicht, so steigt das Filtrat in *h* in die Höhe, vorausgesetzt, daß der obere Watteverschluß des Röhrchens nicht zu dicht ist. Sollte das der Fall sein, so muß derselbe auf sterile Weise etwas gelockert werden. Hat man so das gewünschte Quantum abgefüllt, so wird durch Drehung des Abfüllhahnes die Verbindung mit der Saugflasche unterbrochen, dagegen mit dem Abflußrohr (*g*) hergestellt und das abfließende Serum zu je 1 ccm in die einzelnen sterilen Röhrchen abgefüllt. Ist das Filtrat bis zu dem unteren röhrenförmig ausgezogenen graduierten Ende der Saugflasche gesunken, so wird der Abfüllhahn so gedreht, daß mit Umgehung des Röhrchens (*h*) direkt abgefüllt wird und somit kein Tropfen von dem oft kostbaren Filtrat verloren geht. Wir haben bei dieser Filtration sehr gute Resultate erzielt. Bei unvollkommener Dichtung des Abfüllhahnes steigen bei der Filtration Luftblasen in der bereits filtrierten Flüssigkeit auf.

Um nun den Abfüllhahn bei der Filtrierabfüllvorrichtung ganz auszuschalten, habe ich nach Angabe von Geh. Reg.-Rat Prof. Uhlenhuth folgende Modifikation (Fig. 3) angewandt: Die Saugflasche (*b*) steht hier mittels eines Druckschlauches mit dem genau graduierten Röhrchen (*h*) in Verbindung. Dieses hat an seinem oberen Ende ein seitliches Ansatzrohr (*i*), dessen obere Oeffnuug zwecks Aufnahme von Watte zu einer Kugel ausgezogen ist. Röhrchen *h* steht an seinem unteren Ende durch einen Druckschlauch mit dem mit angeschmolzener Glasglocke umgebenen Ausflußrohr (*g*) in Verbindung. Durch zwei Schraubenquetschhähne kann die Verbindung zwischen Saugflasche und Röhrchen *h* einerseits und zwischen Abflußrohr *g* und Röhrchen *h* andererseits unterbrochen werden.

Vor der Filtration ist der obere Quetschhahn so fest anzuziehen, daß bei der Filtration keine Luftblasen in der bereits filtrierten Flüssigkeit aufsteigen. Ist die Filtration in der oben beschriebenen Weise vollendet und die Luftdruckdifferenz zwischen Saugflasche und atmosphärischer Luft ausgeglichen, so wird nach Schließen des unteren Quetschhahnes der obere geöffnet und das gewünschte Quantum in Röhrchen *h* abgefüllt. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Watteverschluß des Ansatzröhrchens (*i*) nicht zu dicht ist, damit beim Herabfließen des Filtrats die im Röhrchen *h* befindliche Luft entweichen kann.

Durch vorsichtiges Oeffnen des unteren Quetschhahnes kann nunmehr genau quantitativ das Filtrat abgefüllt werden.

Diese Modifikation des Filtrierapparates hat außerdem noch folgende Vorzüge:

1) man kann sich den Apparat selbst zusammensetzen und unbrauchbar gewordene Stücke leicht ergänzen;
2) man kann selbst größere Mengen genau quantitativ abmessen, da die graduierten Röhrchen in den verschiedensten Größen zu erhalten sind;
3) man kann bei nicht quantitativem Abfüllen das Abflußrohr durch Druckschlauch direkt mit der Saugflasche verbinden.



Fig. 3. Modifizierter Filtrierabfüllapparat nach Uhlenhuth und Weidanz.

Das in der angegebenen Weise steril abgefüllte Antiserum wird dann vor Licht und Wärme geschützt am besten im Eisschrank aufbewahrt. Nicht selten kommt es vor, daß sich nach längerem Stehen am Boden des Röhrchens ein feiner Niederschlag bildet, der höchstwahrscheinlich durch ausfallende Eiweißstoffe bedingt ist. Die Wirksamkeit des Serums wird dadurch nicht beeinflußt, der Niederschlag ist

allerdings insofern sehr störend, als beim Versand des Röhrchens das Serum getrübt werden kann. Meistens gelingt es durch längeres Stehenlassen oder durch Zentrifugieren, das Serum wieder klar zu bekommen. Man kann sich auch zweckmäßig der von Geh.-Rat Uhlenhuth und mir angegebenen „sterilen Filtrierabfüllvorrichtung bei kleinsten Flüssigkeitsmengen“ (Fig. 4) bedienen.

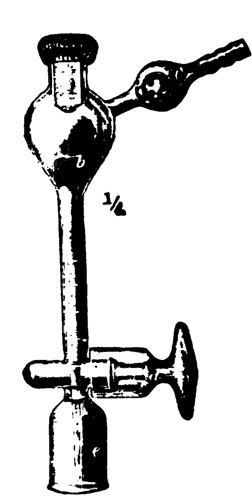


Fig. 4. Mikrofiltrierabfüllapparat.



Fig. 5. Modifizierter Mikrofiltrierabfüllapparat.

Der Apparat besteht aus der Silberschmidt-Kerze (*a*), die mittels einer Gummikappe mit der Saugflasche in Verbindung steht, das seitliche Ansatzrohr (*c*) sowie die Absaugevorrichtung entspricht genau den oben beschriebenen Angaben. Das untere zu einem Röhrchen ausgezogene Ende des Sauggefäßes ist genau graduiert, so daß die Flüssigkeit hier direkt gemessen und steril entnommen werden kann. Will man auch hier aus demselben Grunde wie oben den mit umschmolzener Hülle versehenen Abfüllhahn *d* vermeiden, so braucht man den Apparat nur in der Weise zu modifizieren (Fig. 5), daß man das graduierte Röhrchen mittels Druckschlauch und Schraubenquetschhahn mit dem Abflußrohr (*g*) verbindet.

Die Apparate sind von der Firma F. M. Lautenschläger-Berlin angefertigt und von dort zu beziehen.

Berichtigung.

Auf p. 216 des laufenden Bandes, Versuch No. 4, ist unter „Datum der Impfung“ beide Male zu lesen: 13. Dez. 06. und nicht 13. Jan. 06.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLVI. Heft 7.

Ueber eine besondere Streptothrixart bei der chronischen Eiterung des Menschen.

[Aus der Serumabteilung des bakteriologischen Institutes in Kiew.]

Von Dr. **M. P. Neschczadimenko.**

Mit 1 Tafel.

Bei einigen Erkrankungen des Menschen und der Tiere, welche nach ihrem klinischen und pathologisch-anatomischen Bilde der Aktinomykose ähnlich sind, werden Mikroorganismen beobachtet, die sich von den Strahlenpilzen unterscheiden und unter dem Namen Cladothrix, Streptothrix etc. beschrieben sind. Im Eiter und anderen pathologischen Produkten finden sich diese Mikroorganismen in der Form von großen, manchmal geschlängelten, verzweigten Fäden ohne Drusen und Kolben. Gasperini, Berestneff (1), Lachner-Sandoval etc. halten es für richtig, diese Pilze mit dem Namen Actinomyces zu bezeichnen. In der letzten Zeit werden diese Pilze, welche dem Erreger farcin du bœuf Nocards ähnlich sind und früher unter dem Namen Cladothrix, Streptothrix beschrieben sind, zu Streptothrix gerechnet (Petruschky [5], Caminiti [6]).

Petruschky in seiner Monographie hält es für richtig, dieselben als eine besondere Gruppe, Trichomyceten, zu betrachten. Den Streptothricheen rechnet auch Petruschky diejenigen Mikroorganismen zu, welche Berestneff unter dem Namen Pseudoaktinomykose beschrieben hat.

Neben diesen Streptothricheen, welche nach ihren kulturellen Eigenschaften, sowie nach den aus dem Eiter und anderen pathologischen Produkten erhaltenen Formen identisch sind, werden auch solche Streptothricheen beschrieben, welche sich von der typischen Form nach ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften unterscheiden. Zu den letzteren gehört auch die von mir weiter beschriebene Form.

Mikrophyten mit diffuser Vermehrung in den Geweben (nach der Terminologie von Berestneff) wurden zuerst in der Pathologie des Menschen von Ferd. Cohn (5) beschrieben, der die von Foerster aus einem entzündeten Tränenkanal erhaltenen Konkremente studiert hatte. In diesen Konkrementen wurden dünne, zarte, nebeneinander gelagerte oder verfilzte Fäden gefunden; einige waren mit Verzweigungen versehen. Den in diesen Konkrementen gefundenen Pilz hat F. Cohn mit dem Namen Streptothrix Foersteri bezeichnet. Du Bois Saint-Sévérain (5) fand auch einen fadenförmigen Pilz im Eiter bei Conjunctivitis mit ulcerierter Caruncula lacrimalis; es gelang, diesen Pilz in Reinkultur zu züchten; er verflüssigte Gelatine, bildete auf Kartoffeln gelbe, runde Kolonieen und wurde mit dem Namen Streptothrix aurea bezeichnet. Silberschmidt (7) machte Mitteilung über einen bei Dacryocystitis gefundenen Pilz, welcher auf festen Nährböden sich obligat anaërob zeigte, auf flüssigen Nährböden jedoch auch ohne Luftabschluß wuchs. Silberschmidt rechnet diesen Pilz der Streptothrix (Kruse) zu. In zwei anderen Fällen von Dacryocystitis beschrieb Silberschmidt eine anaërob wachsende Streptothrix, in dem dritten Falle war ein aërobes Wachstum der gezüchteten Kultur zu bemerken; sie verflüssigte auch Gelatine. Von den ersteren zwei Pilzen bildete einer in der Kultur Stäbchen, der andere lange Fäden. Eppinger (8) fand im Eiter von einem Gehirnabsceß verzweigte, ungleichmäßig sich färbende Fäden, welche im Aussehen den Streptokokken ähneln. Eine üppige Kultur war auf Zuckeragar zu bemerken; sie verflüssigte Gelatine nicht; einzelne Kolonieen bestehen aus radiären Fäden; auf Agar und Kartoffeln bildet sich

eine dicke, gefaltete, ockerfarbige Haut. Mikroskopisch sind in den Kulturen Fäden verschiedener Größe zu bemerken. Eppinger hat diesem Pilze den Namen Cladothrix asteroides gegeben. Ferré und Flaguet (9) haben im Eiter von einem Gehirnabsceß einen fadenförmigen Pilz mit Verzweigungen gefunden, welcher auf allen Nährböden wächst und auf Kartoffeln eine graue, ockerfarbige Haut bildet. Sabrazès und Rivière (10) haben auch im Eiter von einem Gehirnabsceß eine Streptothrix gefunden, welche auf allen Nährböden wächst und eine orangegefärbte Haut bildet.

Berestneff (1) beobachtete im Eiter eines Gehirnabscesses und von subkutanen eiterigen Metastasen verzweigte, nach Gram und Ziehl sich färbende Fäden, und erhielt aus diesem Eiter in Reinkultur einen auf allen Nährböden wachsenden Pilz. In Bouillon waren weißliche, runde Körnchen von strahliger Struktur zu beobachten; in Milch bildete der Pilz ein rosa gefärbtes Häutchen; auf Agar wachsen runde, zusammenfließende Kolonieen, welche später mit einem weißlichen, durchleuchtenden Häutchen bedeckt werden; unter diesem letzteren ist eine rosa gefärbte Schicht zu bemerken. Er verflüssigt Gelatine und erstarrtes Serum. An Kartoffeln und anderen festen Nährböden haften die Kolonieen nur peripherisch. Die Kultur des Pilzes ist nach Berestneffs Meinung mit derjenigen von Sabrazès und Rivière identisch. Bei subkutaner Injektion entstehen Infiltrate, welche sich nach 1—1$^1/_2$ Wochen resorbieren. Diese Infiltrate enthalten dichten Eiter und in dem letzteren Fäden des injizierten Pilzes. Lubimoff hat im Jahre 1888 im Auswurfe bei Bronchopneumonie sich nach Ziehl färbende Fäden beobachtet. Lubimoffs Präparate wurden von Berestneff studiert, welcher diesen Pilz als identisch mit den von ihm selbst und Sabrazès und Rivière beobachteten gefunden hat. Aehnliche Pilze unter dem Namen Streptothrix wurden bei Lungenerkrankungen im Auswurfe und in kutanen eiterigen Metastasen von Scheele und Petruschky, Petruschky, Rullmann, Foulerton beschrieben. Diese Streptothrix war nach Ziehl färbbar, bildete in der Kultur Fäden und Stäbchen mit Endschwellungen; die Stäbchen waren den Diphtheriebacillen ähnlich. Krause hat eine Streptothrix-Art beschrieben, welche ein schwaches aërobes und anaërobes Wachstum zeigte, und zwar nur bei Körpertemperatur; in der Kultur waren diphtherieähnliche Stäbchen zu beobachten.

Schabad (11) hat bei einer Erkrankung, welche das klinische Bild einer Lungenaktinomykose darstellte, eine Streptothrix beschrieben; im Auswurfe und im Eiter fehlten die für den Strahlenpilz charakteristischen Körner, dagegen wurden verzweigte Fäden gefunden, welche sich bei der Färbung nach Ziehl säurefest zeigten. Aus einem Absceßeiter wurde die Reinkultur eines fadenförmigen Pilzes erhalten, welcher auf allen Nährböden wächst; auf festen Nährböden bildet er ein dickes, gefaltetes Häutchen, welches an der Oberfläche des Nährbodens haftet und ein orange gefärbtes Pigment bildet. Intraperitoneale Injektion bei Meerschweinchen rief fibrinöse Peritonitis und lokale Pseudotuberkulose des Bauchfells und der Organe der Bauchhöhle hervor. Bei intravenöser Injektion entwickelte sich bei Kaninchen disseminierte Pseudotuberkulose aller Organe und Muskeln. In den Eiterherden und in den Tuberkeln wurden die Fäden des injizierten Pilzes beobachtet. Mit diesem von Schabad beschriebenen Pilze zeigten sich identisch die von Eppinger, Aoyama und Miyamota, MacCallum beschriebenen nach ihren kulturellen Eigenschaften, sowie nach ihrem Verhalten zu den Säuren und nach ihrer Fähigkeit, nach der Einimpfung bei Tieren Pseudotuberkulose hervorzurufen. Diese letztere Eigenschaft trennt diesen Pilz von den von Sabrazès und Rivière, Berestneff, Scheele und Petruschky etc. beschriebenen, welche bei Tieren keine Pseudotuberkulose hervorzurufen im stande sind. Die von den letzten Autoren beschriebenen Streptothricheen sind säurefest und färben sich nach Ziehl-Neelsen.

Berestneff beschreibt in seiner Arbeit: „Ueber Pseudoaktinomykose" (4) Mikroorganismen, welche in den Geweben und im Eiter Körner bilden, die aus Fäden mit kolbenförmigen Auftreibungen bestehen; sie unterscheiden sich aber in einigen kulturellen Eigenschaften von den Strahlenpilzen. Bei einem Kieferabsceß und in einem Falle von Pleuropneumonie hat Berestneff im Eiter weißlich-gelbe Körnchen beobachtet, welche aus geraden und geschlängelten Fäden bestanden, die manchmal Verzweigungen mit kolbenförmigen Auftreibungen bildeten. Die Fäden waren nach Gram färbbar. Die Kolben entfärbten sich nach Gram und färbten sich mit Eosin. Auf den Nährböden trat spärliches Wachstum kleiner Kolonieen auf. Auf Gelatine und Kartoffeln war kein Wachstum zu bemerken. In Bouillon entstanden weißliche, bröckliche Körnchen. Bouillon zeigte sich sehr günstig für diesen Pilz und hatte einen unangenehmen Geruch. Besseres Wachstum war unter anaëroben Bedingungen zu beobachten. Die Lebensdauer des Pilzes war gering; in dem ersten Falle dauerte das Wachstum 2$^1/_2$ Monate, im zweiten Falle gelang die Ueberimpfung nur zweimal. Mikroskopisch zeigte die Kultur endständige Anschwellungen. Im dritten Falle (Lungenerkrankung mit einer Fistel) hat Berestneff im Eiter Körner beobachtet, welche aus grampositiven, kurzen Fäden

und Stäbchen (3—5 μ) bestanden; die Endkolben waren auch nach Gram färbbar. Auf Agar war ein spärliches Wachstum zu bemerken, in Bouillon waren die Körner von Stecknadelkopfgröße. Die Bouillon blieb klar. Auf Kartoffeln und auf Gelatine war kaum merkbares Wachstum zu beobachten; die Gelatine wurde nicht verflüssigt. Mikroskopisch konnte man in der Bouillonkultur Kokken und sehr selten kurze Stäbchen bemerken. Auf Nährböden mit Eidotter trat kein besseres Wachstum auf; auf Agar bestand die Kultur aus Stäbchen, 3—5 μ lang, mit Endschwellungen und seltenen Verzweigungen. Die kulturellen Eigenschaften geben Berestneff die Möglichkeit, die in den drei Fällen beschriebenen Mikrophyten den Bakterien zuzurechnen und für verwandt mit Tuberkelbacillen zu erklären. Petruschky rechnet, wie oben erwähnt, die beschriebenen Pilze den Streptothricheen zu.

Perthes hat bei Noma eine Streptothrix gefunden. Pawlowsky (12) hat in zwei Fällen von Noma bei mikroskopischer Untersuchung ein Gewirr von langen Fäden, welche stellenweise schwach ausgeprägte Verzweigungen zeigten, beobachtet. Mit dieser Untersuchung hat Pawlowsky die ätiologische Bedeutung der Streptothrix bei Noma bestätigt, welche zuerst von Perthes erwiesen wurde.

Die Erkrankung des Menschen, welche Anlaß zu unserer Mitteilung gegeben hat, war folgender Art:

Patient J. D. ist in der Universitätsklinik in Kiew (Direktor Prof. W. P. Obraszoff) den 18. Nov. 1906 aufgenommen worden. Anfang August traten bei J. D. Schmerzen im rechten Hypogastrium auf; Ende August verstärkten sich die Schmerzen in solchem Grade, daß sie das Atmen verhinderten. Dabei hat der Kranke eine harte Geschwulst im rechten Hypochondrium bemerkt; nach 2 Monaten fing die Geschwulst an, sich zu erweichen, und in der Gegend des Nabels bildete sich eine eiternde Fistel. Bei der Untersuchung des Kranken wurde im rechten Hypochondrium eine harte Geschwulst gefunden. Der untere Rand verläuft unterhalb des Nabels, die obere Grenze vereinigt sich mit der Dämpfung der Leber; die rechte Grenze ist von der Vereinigungsstelle der 7. und 8. Rippe nach unten gerichtet, die linke vom Proc. xyphoid. nach unten; 2 Finger über dem Nabel fangen die beiden Linien an, sich abzurunden, und bilden einen Bogen, welcher 1—1½ Finger unter dem Nabel herabsteigt. Bei der Perkussion wurde Dämpfung konstatiert; bei der Palpierung wurden die Ränder bretthart gefunden. Bei Respirationsbewegungen ändert die Geschwulst ihre Stelle nicht. Bei der rechten Grenze der Geschwulst ist eine handtellergroße fluktuierende Stelle zu konstatieren. Links vom Nabel befindet sich eine Fistel, welche bei dem Andrücken der fluktuierenden Oberfläche Eiter entleert.

Der Kranke bekam Jodkalium, worauf die Eiterausscheidung sich zu vermindern anfing. Genesung; gesund aus der Klinik entlassen.

Im Eiter wurden mikroskopisch nach Gram färbbare und nicht färbbare Kokken und Stäbchen beobachtet. Neben diesen Formen war auch eine große Menge von langen, manchmal verzweigten, sich nach Gram färbenden Fäden zu bemerken. Nicht selten trugen die Fäden Verzweigungen, welche den echten Verzweigungen ähnlich sind, Endkolben waren nicht zu bemerken. Die Fäden waren 0,75—1 μ dick. Manchmal färben sich die Fäden unregelmäßig, so daß sie wie Streptokokken aussehen. In solchem Falle waren die Fäden 1,5 μ dick. Die Länge der Fäden betrug 5—60 μ. Bei Untersuchung des Eiters im ungefärbten Präparat konnten wir weder Drusen noch Kolben beobachten, doch haben wir Fäden mit kleinen Anschwellungen an den Enden, wie bei dem Diphtheriestäbchen, gesehen.

Dieses Bild haben wir regelmäßig bei Untersuchung des frischen Eiters gesehen; Körner, wie bei Actinomycosis, haben wir nicht gefunden. Im sterilisierten Wasser zeigte der Eiter weißliche Klümpchen von unregelmäßiger Form; beim Schütteln zerfielen diese in kleine Flöckchen. Die Flöckchen waren mohnkorngroß oder kleiner. Mikroskopisch zeigten die Flocken ein Gewirr von Fäden und Kokken (Fig. 1), es war aber keine strahlige Anordnung, wie bei Actinomycosis, zu bemerken.

Bei der Färbung der Flocken waren keine Endkolben zu beobachten, obgleich der Eiter in frischem Zustande gefärbt wurde. Die Fäden und zwischenliegenden Kokken färbten sich mit allen Anilin-

farbstoffen und nach Gram; sie entfärbten sich nach Ziehl-Neelsen und nach der Methode von Rabe (13), bei der die Entfärbung mittels sehr verdünnter Säure ausgeführt wird. Säurefest haben sich, wie oben erwähnt, die von Eppinger, Rabe, Sabrazès und Rivière, Berestneff, Schabad etc. beschriebenen Pilze gezeigt.

Das mikroskopische Bild der einzelnen Fäden und des ganzen Gewirres ist den von Berestneff in einem Kieferabsceß und bei einer Lungenerkrankung gefundenen Formen (Ueber Pseudoaktinomykose, Taf. I, Fig. 1) ähnlich; im Eiter hat Berestneff jedoch Drusen mit Kolben, welche sich mit Eosin und saurem Fuchsin färben, beobachtet. Teilweise bildete, wie aus den weiteren Ausführungen ersichtlich ist, auch unser Pilz in der Kultur solche Formen, welche von Berestneff in den drei Fällen, die er der Pseudoaktinomykose zurechnet, beobachtet sind.

Bei der Aufnahme des Kranken in die Klinik sonderte die Fistel reichlich Eiter ab; in diesem konnten nach dem Auswaschen mit Wasser in großer Menge die oben beschriebenen Flocken nachgewiesen werden. Während der Genesung des Kranken verminderte sich die Zahl der Flocken, und in der letzten Zeit konnten mikroskopisch einzelne Fäden und nur selten Flocken gefunden werden. Zur Gewinnung von Reinkulturen wurden die Flocken in sterilem Wasser abgewaschen und dann auf die Nährböden übertragen. Der Pilz wuchs nur unter streng anaëroben Bedingungen und bei Bruttemperatur (36—37 ° C). Bei Ueberimpfung auf flüssige und feste Nährböden (Bouillon, Bouillon mit Ascitesflüssigkeit, Agar, Agar mit Ascites und Zucker, erstarrtes Serum, Kartoffeln, Gelatine) in vor Austrocknung geschützten Röhrchen und Petri-Schalen kam kein Wachstum zu stande. Unter anaëroben Bedingungen wachsen die Flöckchen spärlich, es gelang auch hier nicht, üppiges Wachstum zu erzielen, nur wenige von den eingeimpften Flöckchen bildeten Kolonieen.

In Bouillon mit Eidotter tritt üppigeres Wachstum auf; es entwickelte sich eine Kultur, welche aus langen Fäden bestand. Nach 8—10 Tagen konnte das erste Wachstum bemerkt werden. Die Bouillonkultur bestand aus weißlichen, an der Wand des Röhrchens gelagerten Körnchen; auf dem Boden war ein spärliches Sediment zu bemerken, welches aus ähnlichen Körnchen bestand. Beim Schütteln oder beim Zerreiben mit einem feinen Glasstäbchen zerfielen die Häufchen zu kleineren Körnchen, die Bouillon blieb dabei klar. Mikroskopisch konnte man in der Bouillonkultur etwas gebogene und geschlängelte, sich allmählich an den Enden verdickende Stäbchen bemerken; die letzteren waren 0,5 μ dick und 4,5—9 μ lang (Fig. 2); es wurden auch bis 18 und 20 μ lange Fäden beobachtet (Fig. 4); die Anschwellungen an den Enden betrugen 1 μ. Manchmal wurden Fäden mit dichotomischer Teilung beobachtet (Fig. 3 u. 5). In Bouillon mit Eidotter entwickelten sich bis 7—7,5 μ verfilzte, lange Fäden; auch waren hier Fäden mit ungleichmäßiger Färbung des Protoplasmas zu bemerken; diese Fäden bestanden aus einzelnen Kokken oder Stäbchen (Fig. 5). Auf Agar entwickelten sich am Nährboden haftende Kolonieen von unregelmäßiger Form; vom Zentrum der Kolonieen gingen in den Nährboden Ausläufer ab. In der Peripherie der Kolonieen konnte man eine Einpressung bemerken.

Die Kolonieen waren zuerst grau-weißlich, später wurden sie aber dunkler und nahmen einen gelblichen Ton an, insbesondere im Zentrum

der Kolonieen. Mikroskopisch bestand die Kultur auf Agar aus Stäbchen, welche den Diphtheriebacillen und insbesondere den verzweigten Formen der letzteren ähnlich sind. Die Fäden waren etwas gebogen, mit Verzweigungen und kleinen Anschwellungen an den Enden versehen (Fig. 6).

Die Kolonieen auf erstarrtem Serum waren denjenigen auf Agar ähnlich, aber ohne Pigmentbildung.

Auf Kartoffeln und Gelatine war kein Wachstum zu bemerken.

Unsere Versuche, den Pilz an aërobes Wachstum zu gewöhnen, blieben erfolglos.

Die Lebensdauer des Pilzes auf den künstlichen Nährböden war gering. Von drei Kulturen, welche wir aus dem Eiter erhielten, zeigte nur eine bis zur 8. Ueberimpfung Wachstum; zwei andere hörten nach der 3. Ueberimpfung zu wachsen auf. Die an Tieren (Kaninchen, Meerschweinchen, weißen Mäusen) vorgenommenen Injektionen blieben resultatlos.

Es war also in diesem Falle einer chronischen Eiterung der Bauchwand ein fadenförmiger Mikroorganismus gefunden, welcher morphologisch und kulturell von der typischen Form des Actinomyces-Pilzes sich unterscheidet. Dieser Mikroorganismus bildet Fäden und Gewirre von Fäden, ohne strahlige Anordnung und Drusenbildung zu zeigen. Von den schon beschriebenen Formen des strahligen Pilzes bei Gehirnabscessen und bei Lungenerkrankungen (Cladothrix, Streptothrix von Eppinger, Sabrazès und Rivière, Berestneff, Schabad u. A.) unterscheidet sich der von uns beschriebene Pilz dadurch, daß er dickere Fäden hat, daß die dichotomische Teilung nicht deutlich ausgeprägt ist und daß er keine strahlige Anordnung zeigt. Der Hauptunterschied besteht in den Eigenschaften der Kultur und darin, daß er sich nicht säurefest zeigte. Nach den Formen, welche im Eiter beobachtet wurden, ist der Pilz dem von Berestneff unter dem Namen Pseudoactinomykose beschriebenen ähnlich; die Entwickelung des letzteren trat aber auch aërob auf; in unserem Falle konnten wir unter aëroben Bedingungen kein Wachstum bemerken.

Pilze mit dem Namen Actinomycosis — obligate Anaëroben — wurden von Wolff und Israel (14), Levy (15) beschrieben; diese Pilze waren aber für Kaninchen pathogen.

Nach seinem anaëroben Wachstum und nach der Bildung von Stäbchen in den Kulturen ist der von uns beschriebene Pilz dem von Silberschmidt beschriebenen ähnlich; das Wachstum des letzteren trat aber in flüssigen Nährböden auch aërob ein. Es scheint also unserem Pilze eine besondere Stelle in der Pathologie des Menschen sowie in dem System der Strahlenpilze zu gehören.

Nach seinen morphologischen Eigenschaften (die Bildung von Fäden und Stäbchen) und nach seinem Wachstum auf künstlichen Nährböden steht unser Pilz den Bakterien nahe; nach der Bildung von echter Dichotomie (obgleich nicht gut ausgeprägter), nach der Körnchenbildung in Bouillon ohne Trübung der letzteren ist er den Schimmelpilzen ähnlich. Solche Eigenschaften besitzen die Streptothricheen.

Der von uns beschriebene Pilz ist ein eigenartiger und interessanter anaërober Mikroorganismus. Die Frage über seine ätiologische Bedeutung für die oben beschriebene Erkrankung sowie über seine Stellung in dem System der Bakterien kann aber nur durch weitere ausführliche bak-

teriologische Untersuchungen chronischer Eiterungen überhaupt geklärt werden.

Literaturverzeichnis.

1) Berestneff, Aktinomykose und ihre Erreger. [Diss.] Moskau 1897.
2) — —, Zur Frage der Klassifikation und systematischen Stellung der Streptothrixpilze. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVI.)
3) — —, Zur Aktinomykosefrage. (Prag. med. Wochenschr. Sonderabdr. 1899.)
4) — —, Ueber Pseudoaktinomykose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX.)
5) Petruschky, Streptothrix. (Handb. d. pathog. Mikroorg. Wassermann u. Kolle.)
6) Caminiti, Ueber eine neue Streptothrixspecies und über Streptothricheen im allgemeinen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 3.)
7) Silberschmidt, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII.
— —, Ueber Aktinomykose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII.)
8) Eppinger, Ueber eine pathogene Cladothrix und eine durch sie hervorgerufene Pseudotuberkulosis. (Zieglers Beitr. etc. Bd. IX.)
9) Ferré et Faguel, Sur un abcès du cerveau à streptothrix. (Sem. méd. 1895.)
10) Sabrazès et Rivière, Les parasites du genre Streptothrix dans la pathologie humaine. (Sem. méd. 1895.)
11) Schabad, Actinomycosis atypica pseudotuberculosa. Streptothrix hominis der Autoren. (Russky Wratsch. 1903.) [Russisch.]
12) Pawlowsky, Aetiologie der Noma. (Russky Wratsch. 1907.) [Russisch.]
13) Rabe, zit. nach Berestneff.
14) Wolff und Israel, Virchows Arch. Bd. CXXVI.
15) Levy, Ueber die Aktinomycesgruppe (Aktinomyceten) etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVI.)

Tafelerklärung.

Fig. 1. Im Eiter Flöckchen bildendes Fädengewirr. Gram. Vergr. 750.
Fig. 2, 3 u. 5. Präparat aus der Bouillonkultur. Gram. Vergr. 750.
Fig. 4. Präparat aus der Kultur im Kondensationswasser des Agars. Gram. Vergr. 750.
Fig. 6. Präparat aus der Agarkultur. Gram. Vergr. 750.

Eine Belehrungsschrift über Schutzblattern aus dem vorigen Jahrhundert.

Von **Dr. Hermann Schöppler,** k. b. Oberarzt.

Wenn wir Aerzte in neuester Zeit nur wenig mehr an Pocken erkrankte Menschen zu sehen bekommen — ja ich darf sagen, daß es so manchen Arzt in der Jetztzeit geben wird, der überhaupt noch keinen Pockenkranken gesehen hat — so sind doch jene Zeiten noch nicht allzu fern, in welchen jene schreckliche Seuche in Deutschland ganz erheblich zu wüten pflegte. So starben z. B., wie Peiper[1]) nach den Angaben Junkers veröffentlicht, in Deutschland in den Jahren 1794—1796 allein ca. 200000 Menschen an den Pocken. Es kann uns daher nicht wundern, wenn man nach Schutzmitteln gegen eine solche Krankheit suchte und sich nicht scheute, nachdem im Anfang des 18. Jahrhunderts ein solches Mittel in der Inokulation auch gefunden worden war, selbst auf die Gefährlichkeit der damaligen Methode hin, sich impfen zu lassen. So konnte ich in einer meiner Arbeiten[2]) zeigen, daß gelegentlich einer Blatternepidemie in Nürnberg der dortige pr. Arzt Johann Konrad Wittwer bereits im Jahre 1769 ausgiebig zu impfen Veranlassung hatte, wenn auch noch nach der von Gatti angegebenen Methode.

---

1) Peiper, E., Die Schutzpockenimpfung und ihre Ausführung. Wien und Leipzig. 1892.
2) Schöppler H., Kiefhabers Seuchengeschichte der Stadt Nürnberg im 18. Jahrhundert. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XLII. 1906.)

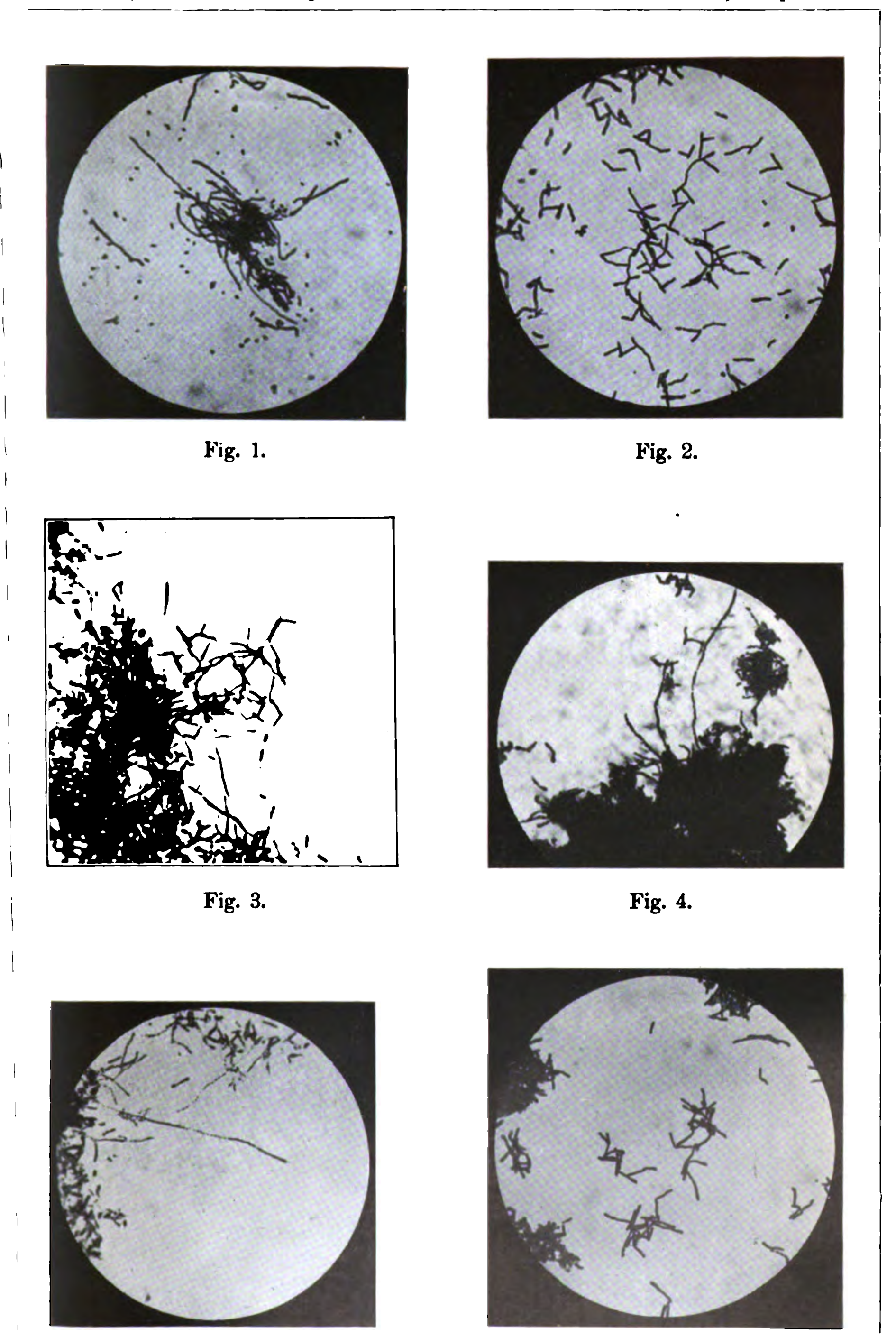


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Obwohl durch die segensreichen Untersuchungen Jenners (1796) man glauben konnte, daß es bald zu einem Verschwinden dieser gefährlichen Seuche kommen könnte, dauerte es noch lange, bis die segensreiche Gabe Jenners[1]) zu einem Allgemeingut geworden ist, und selbst heute noch gibt es Leute, die sich von dem ungeheuren Wert des Impfzwanges nicht überzeugen können.

Man könnte nun hier einwenden, warum kümmerten denn sich die maßgebenden Behörden eigentlich erst so spät darum, durch gesetzliche Verordnungen dahin zu wirken, daß diese Seuche schon früher zum Erlöschen gebracht wurde? Darüber eine Antwort zu geben mag man mir erlassen. Dagegen aber muß hier angeführt werden: Sahen sich die Behörden auch nicht veranlaßt, auf gesetzlichem Wege dem Uebel zu steuern, so suchten sie doch zunächst in populär abgefaßten Schriften das Volk über die Notwendigkeit einer Schutzimpfung zu unterrichten. Eine solche Abhandlung wurde mir vom K. bayer. Allgemein. Reichsarchiv München zum Zwecke der Veröffentlichung zur Verfügung gestellt. Es ist dies eine auf Befehl der bayr. Churfürstl. General-Landes-Direktion verfaßte, besonders zur Aufklärung des Landvolkes dienende Belehrungsschrift. Der Verfasser ist als der praktische Arzt J. Wetzler in Straubing angegeben. Die kleine Schrift ist im Jahre 1802 erschienen und ist in Oktavformat zur Ausgabe gelangt. Der Titel des Büchleins lautet:

Belehrung der Landleute
über
die Schutzblattern

Von
Johann Wetzler
praktischem Arzt in Straubing

Auf Anbefehlung
der
Churfürstl. General-Landes-Direktion

München 1802
Gedruckt bei Franz Seraph Hübschmann.

Als Motto zu seinen Ausführungen wählte der Verfasser der Aufklärungsschrift die Sentenz „Der Vernünftige wählet das geringere Uebel, um das größere zu verhüten". In seiner Einleitung weist dann Wetzler auf das vor ungefähr 1000 Jahren erfolgte Eindringen der Blattern in Europa hin, um zugleich auch die schrecklichen Folgen, die jene zu erwarten haben, welche von dieser Seuche befallen werden, zu besprechen. Das Jammern und Beschwören, sich doch nicht solcher Gefahr der Blatternansteckung sowohl selbst als auch seine Angehörigen leichtfertig auszusetzen, zieht sich nun durch eine ziemlich lange Reihe von Absätzen in seiner kleinen Schrift hindurch. Er ermahnt die Eltern, die vielleicht einen einzigen Sohn, eine einzige Tochter ihr eigen nennen, die der Stolz und die Freude ihres Eheglückes sind, an denen sie sonst bei Tag und Nacht mit Liebe hängen, für welche sie gerne alle Mühen und Lasten ihres Berufes tragen, doch nicht durch eigenen Leichtsinn der Blatterngefahr auszusetzen. So fährt er z. B. in seinen etwas zu sehr im Jammertone gehaltenen Ermahnungen fort:

„Solange eure Kinder nicht geblattert haben, so lange muß euch dererwegen vor den Blattern bange seyn. Denn ihr seyd ja keinen Augenblick sicher, ob sie nicht plötzlich die Blattern ergreifen und hinwegraffen. — Wenn ihr nun Kinder habt, die ihr liebt (und welche Eltern werden wohl ihre Kinder nicht lieben?) und die noch nicht geblattert haben, wie muß euch dann zu Mute werden, wenn ihr euch an dem freudigen Gedanken ergötzet, daß eure Kinder euch bald in euren Arbeiten werden unterstützen können und euch dann der traurige Gedanke beyfällt: Vielleicht werden sie noch von den Blattern hinweggerafft, oder vielleicht werden sie durch die Blattern noch so elend und krüppelhaft, daß sie zu gar keiner Arbeit mehr tauglich sind? Wahrlich! es wäre kein Wunder, liebe Eltern, wenn ihr über diesen traurigen Gedanken bey Nacht kein Auge schließen könntet.

Wenn eure Kinder auch die gelinderen Blattern bekommen, wie viele Mühe, wie viele Plagen verursachen sie euch doch nicht. Mehrere Wochen müßt ihr Tag und Nacht an ihren Betten seyn, sie pflegen und warten. Wenn sie erst die bösartigen Blattern bekommen, so habt ihr noch mehrere Plagen. Und wenn ihr eure Kinder so grausam müßt leiden sehen, ohne ihnen helfen zu können, wenn ihr sie am Ende, aller

1) Jenner hatte nach Ebstein bereits viel von seinen Gegnern zu leiden. Ebstein, W., Zur Geschichte der Pockenimpfung. (Der ärztliche Praktiker. Dresden 1897.)



angewandten Mühe ungeachtet, unter entsetzlichen Martern müßt dahin sterben sehen: muß euch da nicht das Herz brechen, müßt ihr da nicht die Blattern verwünschen, nicht wünschen, daß sie auf ewig ausgerotten werden möchten."

Nach dieser wehmütig gehaltenen Einleitung geht Wetzler allmählich auf den Kern der Sache ein. Wenn ihr Eltern nun aber ein Mittel erhalten könntet, das euch von allen diesen Sorgen befreien würde, meint der Verfasser, würdet ihr auch dann euch nur einen Augenblick besinnen, dieses Mittel zu gebrauchen? Und nun wird den Eltern die Freude verkündet, daß es ein solches Mittel gibt, das ihnen sogleich mitgeteilt werden soll.

Wetzler erzählt, wie man schon vor fünfzig Jahren in England[1]) auf die Kuhblattern aufmerksam geworden war, und wie man durch die zufällig auf den Menschen übertragene Krankheit merkte, daß dieselbe diese Personen auf immer gegen die Blattern zu schützen vermöchten. Glücklicherweise, fährt er hierauf fort, wurden nun auch die Aerzte auf das, was die Landleute schon längst wußten, aufmerksam, prüften die Aussagen der Landleute nach und siehe, das Ergebnis war ein günstiges. Die Kuhblattern, die man jetzt Schutzblattern nennt, sind also das Mittel, das Erwachsene und Kinder auf immer gegen die abscheulichen Blattern schützt.

Die nun folgende Schilderung der Einimpfung der Blattern, sowie die Beschreibung des Verlaufes der Impfblattern glaube ich am besten mit des Autors eigenen Worten wiedergeben zu können. Der Verfasser sagt:

„Bey der Einimpfung verfährt man auf folgende Weise: Man befeuchtet die Spitze eines feinen Messerchens mit der Schutzblattern-Materie und bringt sie am Arme unter die Haut. Hiermit ist die ganze Operation, die im geringsten nicht schmerzhaft, vollendet.

Gegen den 6. Tag nach der Impfung bildet sich nun an der Stelle, wo der Strich gemacht worden, eine Blatter, die ungefähr so groß wie eine Linse, mit einer wasserhellen Feuchtigkeit angefüllt und mit einem roten zirkelrunden Flecke umgeben wird. Den 7. bis 8. Tag entsteht meistens Schmerz unter den Achseln, Hitze, Schweiß, Unruhe bey Nacht, blasse Gesichtsfarbe, verminderter Appetit, mürrisches Wesen. Doch trifft es selten zu, daß sich zu dieser Zeit ein Kind bei Tag ins Bett legen muß, manchmal sind die Kinder an diesen Tagen sogar munterer, fröhlicher und haben mehr Appetit. Den 10. bis 11. Tag nimmt die Röthe um die Blatter ab, und die Blatter wird in einen Schorf (Rufer) verwandelt, der ungefähr den 15. bis 16. Tag abfällt.

Manchmal entsteht auch, besonders bey Kindern, die sehr warm gehalten werden, ein Ausschlag von roten Blätterchen über den ganzen Körper, der meistens einige Tage andauert und dann von selbst wieder verschwindet, und von gar keiner Bedeutung ist."

Der Verfasser belehrt dann weiter seine Leser ungefähr auf diese Weise: Wenn ihr nun aus meinen Ausführungen ersehen habt, daß die Schutzblattern eine sehr leichte unbedeutende Krankheit sind, daß ihr nur so viel Blattern bekommt, als man Stiche anbringt, ihr weder am Körper, Gesicht, Brust, Füßen noch sonst wo entstellt werdet, die Jahreszeit sowie das Alter keinen schädlichen Einfluß auf das Impfen haben, selbst kränkliche Kinder und solche, die zahnen, einen Ausschlag haben, das Impfen ertragen können, dann ergreift doch ohne Zaudern das wohltätige Mittel, das ihr nun zur Verfügung gestellt bekommen habt. Nur Dummheit und Bosheit können noch in Betracht kommen, wenn jemand jetzt noch diese Gabe verschmäht. Wer nunmehr keinen Gebrauch von dem Impfen macht, der hat den Tod und das Elend seiner Angehörigen vor dem Schöpfer zu verantworten, und wehe dem, der so etwas einst verantworten muß. Der Verfasser erzählt seinem Leser, daß selbst der Landesherr seinen kleinen Prinzen impfen ließ und daß derselbe, dem stets das Beste seiner Landeskinder am Herzen gelegen ist, seine Untertanen auffordern läßt, sich die Schutzblattern, besonders den Kindern, einimpfen zu lassen. Daß es auch damals bereits Impfgegner gegeben hat, beweisen die folgenden Worte:

„Lasset euch daher durch nichts irre machen, liebe Eltern! Achtet auf jene Menschen nicht, welche euch sagen, daß durch die Schutzblattern zu wenig Blattern-Materie herauskäme, und daß daher eure Kinder in der Folge andere Krankheiten ausstehen müssen[2]). Achtet auf solche Menschen nicht: es sind entweder dumme, unwissende oder boshafte Menschen, die euch nur verführen wollen, denen es lieb wäre, wenn eure Kinder entweder an den Blattern stürben oder durch sie krüppelhaft würden. Ich kann euch als Arzt beteuern, daß kein Kind eine Blattern-Materie mit auf die Welt bringt, daß durch die Blattern keine ungesunde Materie herauskomme, daß ein Kind, welches

---

1) Nach Benj. Jesty war diese Erfahrung in England 1774 gemacht worden. (Brit. med. Journ. 14. Dez. 1901.)

2) Eine Anspielung auf die von den Gegnern Jenners gemachte Behauptung, daß die Vaccination nicht nur ein ekelhaftes tierisches Gift in den menschlichen Körper bringe, sondern daß zum mindesten Blindheit, Lähmung, Verkrüppelung, qualvoller Tod auf die Vaccination folge.

nicht viele Blattern bekommt, deswegen nicht eine ungesunde Materie im Körper behalte. Denn, bedenkt nur selbst, daß es viele Menschen gibt, welche die Blattern nicht gehabt haben, und dennoch 70 und 80 Jahre alt geworden und immer gesund gewesen sind; daß oft gerade diejenigen Kinder, welche sehr viele Blattern gehabt haben, zeitlebens kränklich und ungesund bleiben; daß hingegen oft Kinder, welche sehr wenig Blattern gehabt haben, zeitlebens gesund bleiben: bedenket dieses, und eure Zweifel hierüber werden verschwinden. Glaubt ihr denn, daß euer bester Landesvater selbst dazu auffordern würde, daß ihr euren Kindern sollet die Schutzblattern einimpfen lassen, wenn er nicht vollkommen überzeugt wäre, daß die geimpften Kinder auf immer gegen die natürlichen Blattern geschützet seyen und auch keine andere Krankheit statt der natürlichen Blattern auszustehen haben?

Noch einmal, liebe Eltern, zaudert keinen Augenblick. Wie sehr müßte euch nicht, wenn während eures Zauderns eure Kinder von den abscheulichen Blattern befallen, und von denselben entweder hinweggerafft oder blind, taub, blödsinnig, lungensüchtig oder sonst elend und krüppelhaft würden, euer Zaudern gereuen?"

Nicht uninteressant ist auch, wie der Verfasser seine Leser darauf hinweist, wie sie es anzustellen haben, um zu einer Schutzimpfung zu kommen. Sein Schlußsatz lautet:

„Aber wo, werdet ihr fragen, wo sollen wir dann unsere Kinder impfen lassen? Höret meinen Rat. Es dürften nur die Eltern von einer Pfarr zusammenstehen und an einem bestimmten Tage, wo sie ihre noch nicht geblatterten Kinder zusammen brächten, einen Impfarzt kommen lassen. Die Eltern bezahlen dann gemeinschaftlich die Reisekosten des Impfarztes, die sich eben nicht sehr hoch belaufen können. So könntet ihr, liebe Eltern, mit sehr wenigen Kosten, vielleicht mit 1 oder 2 Gulden, eure Kinder auf immer gegen die abscheulichen Blattern sichern, die eure Kinder so oft entweder ins Grab bringen, oder elend und krüppelhaft machen; so könntet ihr auch in kurzer Zeit diese abscheuliche und gefährliche Krankheit auf ewig ausrotten und die spätesten Enkel würden wegen Ausrottung der Blattern auf euren Gräbern knieend dankbar eure Asche segnen."

Die kleine Arbeit Wetzlers ist in verschiedener Hinsicht interessant. Zunächst einmal als eine Aufklärungsschrift, die nicht von einem Kollegium oder von einem städtischen Senat für einen nur kleinen Kreis von Lesern bestimmt, herausgegeben wurde, sondern die durch oberherrlichen Befehl einem ganzen größeren Lande zur Belehrung überwiesen wird. Belehrungsschriften von medizinischen Kollegien, von den Behörden der Städte, findet man ziemlich häufig, viel seltener sind die auf Befehl von regierenden Fürsten (hier Churfürst Max Joseph von Bayern) ausgegebenen diesbezüglichen Schriften. Von Interesse ist dann auch die Art und Weise, wie der Verfasser den an ihn ergangenen churfürstlichen Auftrag erfüllt. Zunächst sucht er durch das Aufzählen der schrecklichen Folgen der Blatternerkrankung seinen Leser aufmerksam und zugänglich für weitere Belehrung zu machen, dann geht er mit Ermahnung, dann mit Drohungen vor. Nicht uninteressant ist auch seine Ausführung über die Art des Impfens und den Verlauf der Krankheit, sowie seine Mahnung, nicht auf die Gegner der Schutzpockenimpfung zu hören.

Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut.

Von Dr. **Marcus Rabinowitsch**, Berlin.

Mit 1 Tafel.

Schon im Jahre 1873 hat Obermeier[1]), der Entdecker des Rückfallfiebererregers, Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut an verschiedenen Tieren ausgeführt.

Er hat Hunde, Kaninchen und Meerschweinchen subkutan und intravenös geimpft, bekam aber ein negatives Resultat.

Da auch anderen Forschern die Uebertragung der Spirillen auf Tiere nicht gelungen ist, so wurde bezweifelt, daß das von Obermeier entdeckte Spirillum der Erreger des Rückfallfiebers sei, und um so mehr,

1) Centralbl. f. med. Wissensch. 1873. p. 561.

als einige Forscher auch in vielen Fällen von Recurrens beim Menschen die Spirillen im Blute vermißt haben.

Einige Jahre später ist es aber Münch[1]) durch den positiv ausgefallenen Versuch an sich selbst zuerst den Beweis zu liefern gelungen, daß das Spirillum Obermeieri in der Tat der Erreger des Rückfallfiebers ist.

Das wurde bald darauf von Moczutkowsky[2]) und später von Metschnikoff[3]) u. A. bestätigt.

Aber die von Moczutkowsky[4]) gleichzeitig an Affen, Kaninchen. Hunden und Katzen ausgeführten Impfversuche sind negativ ausgefallen.

Zuerst mit positivem Resultat Tiere, und zwar Affen, mit spirillenhaltigem Blut zu impfen, ist es Carter[5]) und Koch[6]), später auch Metschnikoff[7]), Soudakewitsch[8]), Tictin[9]) u. A. gelungen.

Dabei wies schon Carter[10]) darauf hin, und später wurde es auch von den anderen Autoren bestätigt, daß bei den Affen die Infektion anders als beim Menschen verläuft; die Dauer der Inkubationszeit und des Anfalles ist bei den Affen eine kürzere, und ein zweiter Anfall wird bei ihnen nur sehr selten beobachtet, aber auch dieser ist nicht typisch.

Diese positiv ausgefallenen Impfversuche an Affen haben wieder die Veranlassung dazu gegeben, auch andere Tiere zu dem Versuch zu benutzen.

Es wurden wieder von verschiedenen Forschern derartige Impfversuche an kleineren und größeren Laboratoriumstieren ausgeführt, aber ohne Erfolg. Lachmann[11]) hat außer Kaninchen und Hunden auch Pferde, Schafe und Mäuse mit gleichem negativen Resultat geimpft.

Erst im Jahre 1906 ist es zuerst Novy und Kapp[12]), später auch Breinl und Kinghorn, C. Fränkel[13]) u. A. gelungen, die Spirillen des amerikanischen und afrikanischen Rückfallfiebers auf Mäuse und Ratten mit positivem Resultat zu übertragen und häufig einen zweiten Anfall bei den geimpften Ratten zu beobachten. Die von Breinl und Kinghorn ebenso wie die Fränkelschen positiv ausgefallenen Versuche wurden sämtlich mit Spirillen ausgeführt, die von Novy und Knapp im Rattenblut oder in einer mit Rattenblut geimpften Maus erhalten wurden. Wie aber Novy und Knapp in den oben erwähnten Aufsätzen berichten, sind die ersten von Norris im Menschenblut ihnen überlieferten Spirillen immer innerhalb 24 Stunden nach ihrem Erscheinen aus dem Blute der geimpften Ratten ohne Wieder-

---

1) Moskowsky Wratschebn. Wjestnik 1876. No. 1.
2) Centralbl. f. med. Wissensch. 1876. No. 11 und Arbeiten der Aerzte des städt. Krankenhauses zu Odessa. 1877. p. 1.
3) Virchows Archiv. Bd. CIX.
4) L. c.
5) St. Petersb. med. Wochenschr. 1879. p. 111. — Deutsche med. Wochenschr. 1879. p. 189, 351.
6) Deutsche med. Wochenschr. 1879. p. 327. — Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundh.-A. 1881. p. 167.
7) L. c.
8) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1891. p. 545.
9) Medic. Obosrjenie 1893. p. 533. u. 1897. p. 150.
10) Rossbach in Ziemssens Handb. der spez. Path. u. Therap.
11) Lachmann, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. XXVII. p. 526.
12) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. p. 325 und Bd. XL. p. 362 u. 386.
13) Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 5. — Jahresber. über die Fortschr. der Med. 1896. p. 708.

kehr verschwunden. Erst nach wiederholten successiven Passagen durch Ratten ist es gelungen, die Spirillen länger in denselben zu erhalten. Mit den Spirillen des russischen Rückfallfiebers wurden vor kurzem auf Veranlassung von C. Fränkel in Moskau Mäuse geimpft und zur Untersuchung demselben zugesandt. „Doch ist uns hier", sagt über diese seine Untersuchungen Fränkel[1]), „nicht gelungen, trotz aller Bemühungen und eifrigsten Suchens, in den Mäusen oder in den von ihnen aus geimpften Ratten Spirillen zu finden."

Bei meinen Untersuchungen der Rückfalltyphusepidemie in Kiew[2]) habe ich Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut an weißen Mäusen und Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Tauben ausgeführt. Das Blut wurde vom Kranken während des Anfalles, nachdem festgestellt wurde, daß es Spirillen enthält, aus der Armvene mit einer Spritze entnommen und sofort auf die Tiere subkutan verimpft.

Nach der Impfung wurde bei den geimpften Tieren täglich im Verlaufe von ca. 2 Wochen die Temperatur im Rectum gemessen und das Blut aus dem Schwanz, Ohr bezw. Flügel untersucht.

Diese Impfversuche haben, wie ich im voraus bemerken möchte, die zuletzt erwähnten Erfahrungen in bezug auf die Spirillen des russischen Rückfallfiebers nicht ganz bestätigt.

Zuerst wurden zum Versuch erwachsene Tiere (Mäuse 18—21 g, Ratten 125—135 g, Meerschweinchen 580—690 g und Kaninchen 1635 bis 1825 g schwer) benutzt. Den Mäusen wurde je $^1/_4$ ccm, den Ratten und Tauben je $^1/_2$ ccm, den Meerschweinchen und Kaninchen je 1 ccm vom spirillenhaltigen Blute subkutan und intraperitoneal verimpft.

Sämtliche geimpften Tiere haben mit einer Temperatursteigerung von 0,5—1,5° nach der Impfung reagiert.

Bei einigen Mäusen und Ratten ist am 5.—8. Tage eine Hyperleukocytose mit Vermehrung der gelapptkernigen neutrophilen Elemente zutage getreten, aber das Allgemeinbefinden der Tiere wurde nicht bemerkbar beeinflußt, und die Spirillen konnten in ihrem Blute, von einer Maus abgesehen, nicht nachgewiesen werden.

Bei den Meerschweinchen konnte eine Vermehrung der eosinophilen Zellen festgestellt werden, dagegen trat nichts Auffallendes, wenn man von der Polychromatophilie und dem Zerfall der roten Blutkörperchen absieht, auf im Blute der geimpften Kaninchen und Tauben. Auch bei keinem von diesen Tieren konnten die Spirillen im Blute nachgewiesen werden.

Bei der einen obenerwähnten Maus, die nur 11 g wog, sind nach 32 Stunden nach der Impfung Spirillen im Blute gefunden worden. Die Spirillen waren im Ausstriche nur ganz vereinzelt zerstreut, auf je 15—20 Gesichtsfelder 1—2 Spirillen, und schon nach weiteren 24 Stunden verschwanden sie aus dem Blute vollständig.

Von einer Vermehrung der Spirillen im Blute der Maus konnte also keine Rede sein.

Zwei von den geimpften 12 Mäusen sind nach 6 bezw. 14 Tagen eingegangen; die inneren Organe dieser Tiere zeigten aber, von einer leichten akuten parenchymatösen Nephritis in einem Falle abgesehen, keine bemerkbaren makroskopischen oder mikroskopischen Veränderungen. Alle anderen Tiere blieben am Leben.

---

1) Hygien. Rundschau. Bd. XVII. p. 264.
2) Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 44 u. 45.



Die Tatsache, daß die Spirillen nur bei der einen jungen Maus im Blute nach der Impfung zum Vorschein kamen, hat den Gedanken erweckt, daß dieses Ergebnis der Impfung hier auf das Alter des Tieres zurückzuführen ist.

Um diese Vermutung zu entscheiden, wurden neue Impfversuche an 10 jungen weißen Mäusen (18—13 g) und 8 Ratten (21—28 g) ausgeführt.

Gleichzeitig wurden aber je 6 erwachsene Tiere mit gleichem spirillenhaltigen Blut geimpft.

Von den geimpften erwachsenen Tieren wurden nach ca. 24 und 40 Stunden nach der Impfung bei 2 Mäusen vereinzelte Spirillen, auf je 30—50 Gesichtsfelder 1—2 Spirillen, im Blute gefunden, sie waren aber bei der nächsten Blutuntersuchung, die nach 10 Stunden ausgeführt wurde, nicht mehr nachweisbar.

Dagegen wurden im Blute von den geimpften jüngeren Tieren die Spirillen bei 8 Mäusen und 5 Ratten gefunden.

Die Spirillen waren zahlreicher, auf je 10—15 Gesichtsfelder 1 bis 3 Spirillen; aber auch hier waren sie in der Mehrzahl der Fälle nach weiteren ca. 24 Stunden nicht mehr nachweisbar; in einigen Fällen verschwanden sie erst nach ca. 48 Stunden und kamen am 2. Tage nach ihrem Erscheinen im Blute schon häufiger zum Vorschein. Bemerkenswert ist dabei die Tatsache, daß in den negativ ausgefallenen Versuchen das zur Impfung benutzte spirillenhaltige Blut kurz vor der Krisis des ersten und zweiten Anfalles vom Patienten entnommen war.

Eine Hyperleukocytose trat bei den jüngeren Tieren regelmäßiger zutage und hat sich von derjenigen bei den erwachsenen Tieren dadurch unterschieden, daß zu den gelapptkernigen auch einkernige Leukocyten und große Lymphocyten hinzutraten, außerdem auffallend groß war die Zahl der Blutplättchen, die große Haufen bildeten und unter denen viele von der Größe eines roten Blutkörperchens waren.

Am 6.—8. Tage nach der Impfung trat bei einigen der geimpften Ratten ein leukämieähnlicher Blutbefund mit excessiver Vermehrung der Erythroblasten und vielen einkernigen Leukocyten von atypischer Form auf. Bei 2 Ratten trat ein ganz eigentümlicher Blutbefund zutage, den die Figur 2 zeigt[1]). Auch beinahe in sämtlichen Fällen wurde eine Polychromatophilie der roten Blutkörperchen beobachtet.

Alle beschriebenen Veränderungen des Blutes kamen erst nach einigen Tagen zum Vorschein, nachdem die Spirillen aus dem Blute verschwunden waren.

3 Wochen nach der Impfung ist eine Maus eingegangen, ohne irgendwelche Veränderungen an den inneren Organen zu zeigen.

Auf Grund der Ergebnisse der letzterwähnten Versuche hielt ich für angebracht, noch jüngere Tiere zu impfen.

Es wurden deshalb acht 4—8 Tage alte Ratten mit einigen Tropfen von spirillenhaltigem Blut geimpft.

20—22 Stunden nach der Impfung wurden bei 6 der geimpften Tiere (eine Ratte ist kurz nach der Impfung eingegangen) Spirillen im

1) Herr Prof. Grawitz, der die Präparate durchgemustert hat, hat sich dahin ausgesprochen, daß dieser Blutbefund durch eine Reizung des Knochenmarkes zustande gekommen ist. Es sei dabei bemerkt, daß Ponfik (Virchows Arch. Bd. LX) bei Menschen, die der Recurrens erlegen sind, eine Herderkrankung des Knochenmarkes festgestellt hat.

Blut nachgewiesen. Es kamen hier auf je 3—5 Gesichtsfelder 1 bis 2 Spirillen zum Vorschein.

Bei der nächsten Blutuntersuchung, die nach 9 Stunden ausgeführt wurde, waren schon in jedem Gesichtsfelde vereinzelte Spirillen vorhanden, und am nächsten Tage waren sie in jedem Gesichtsfelde zahlreich. Außerdem kam auch hier eine Polychromatophilie der roten Blutkörperchen zum Vorschein, wie es die Figur 1 zeigt.

3—4 Tage waren die Spirillen im Blute nachweisbar und verschwanden nachher gänzlich.

Die Tiere zeigten keine Krankheitserscheinungen, haben an der Mutterbrust gut gesaugt, und es wurde keine Hemmung in ihrer weiteren Entwickelung bemerkt.

Auch bei diesen ganz jungen Tieren kam nach einigen Tagen, nachdem die Spirillen aus dem Blute verschwunden sind, der oben beschriebene leukämieähnliche Blutbefund zum Vorschein. Es muß aber ausdrücklich betont werden, daß beim Ausstrich des Blutes mit dem gewöhnlichen Deckglas auf dem Objektträger die Mehrzahl der weißen Blutkörperchen an den Rändern des Blutausstriches sich anhäufen und sie am besten hier untersucht werden können.

Eine Ratte bekam nachträglich struppiges Haar, welches noch nach 2 Monaten zu beobachten war.

Aber auch an derartigen ganz jungen, nur einige Tage alten Ratten, die eine ganz feine, haarlose und durchsichtige Haut hatten, und die sich für die Spirillen als sehr empfänglich gezeigt haben, ist es mir nicht gelungen, die Spirillen durch Wanzen und Läuse zu übertragen. Daß aber die Tiere von den Insekten, die sofort, nachdem sie spirillenhaltiges Blut vom Kranken gesaugt hatten, auf die Tiere übertragen und 12 Stunden gelassen wurden, stark gebissen wurden, davon konnten die zahlreichen Bißstellen Zeugnis ablegen.

Wir sehen also, daß, während von den geimpften Tieren bei den erwachsenen Kaninchen, Meerschweinchen, Tauben und Ratten überhaupt keine Spirillen und bei den erwachsenen Mäusen sie nur sehr selten und ganz vereinzelt im Blute zum Vorschein kamen, sie viel häufiger und zahlreicher bei den jüngeren Tieren zutage traten, aber nur bei den ganz jungen blieben die Spirillen mehrere Tage im Blute nachweisbar und haben sich dort stark vermehrt.

Bei sämtlichen geimpften Tieren kam eine mehr oder weniger ausgesprochene Veränderung des Blutes zum Vorschein, aber wiederum nur bei den jungen Tieren und besonders bei den Ratten war diese Veränderung sehr auffallend und bemerkenswert.

Ob auch auf andere jüngere Tiere das Spirillum Obermeieri zu verpflanzen ist, konnte ich nicht feststellen, da mir keine derartigen Tiere zur Verfügung standen.

Zum Schluß möchte ich Herrn Prof. Dr. Grawitz für die Liebenswürdigkeit, mit der er meiner Bitte, die Präparate durchzumustern, entgegengekommen ist, meinen innigsten Dank aussprechen.

Erklärung der Figuren.

Fig. 1. Spirillenhaltiges Rattenblut. *a*, *b* polychromatophile Blutkörperchen; *c* Spirillen.

Fig. 2. Leukämieähnlicher Blutbefund. *a*, *b*, *c* vielkernige Zellen mit ganz runden, intensiv blauen Einzelkernen; *d* vakuolisierte große, endothelioide Zellen; *e* Leukocyt von atypischer Form; *f* Mastzelle; *g* Erythroblasten.

Ueber einen neuen Bacillus als Erreger eines exanthematischen Fiebers in der Mandschurei während des japanisch-russischen Krieges.

„Bacillus febris exanthematici Mandschurici".

Von Dr. **T. Horiuchi**,

Dozent an der medizinischen Akademie in Formosa, Japan.

Mit 3 Fieberkurven.

Während ich im japanisch-russischen Kriege (1904—1905) als Militärarzt im bakteriologischen Laboratorium des Reserve-Hospitales zu Hiroshima tätig war, hatte ich Gelegenheit, eine größere Anzahl von Krankheitsfällen, die Flecktyphus-verdächtig waren, eingehend bakteriologisch zu untersuchen. Nach vielen vergeblichen Bemühungen und Untersuchungen, über die noch zu berichten sein wird, gelang es mir zuletzt, einen spezifischen Mikroorganismus zu finden und zu züchten, der bei etwa 40 Fällen mit dem Serum der betreffenden Kranken oder mit dem Exsudat, das aus künstlich mittels Pflaster hervorgerufenen Blasen gewonnen wurde, eine spezifische Agglutinationsreaktion gab, nicht aber mit dem Serum von gesunden Menschen und Tieren, sowie mit dem von anderen Fieberkranken. Ueber diese Befunde habe ich in einem sehr umfangreichen amtlichen Bericht an das japanische Kriegsministerium, sowie in einer japanischen bakteriologischen Zeitung und einer militärärztlichen Zeitschrift ausführliche Mitteilungen gemacht. Bei meiner Studienreise nach Deutschland nahm ich dann Kulturen des betreffenden Bacillus mit, um ihn in Deutschland weiter zu studieren und seine morphologischen und biologischen Eigenschaften mit den anderen bekannten Bacillen zu vergleichen. Es dürfte vielleicht von Interesse sein, aus meinen Veröffentlichungen in Japan einen kurzen Auszug zu geben und dem noch das hinzuzufügen, was ich hier über die Stellung des Bacillus und seine Eigenschaften weiter gefunden habe.

Während des Krieges fanden im ganzen ca. 20000 Mann Aufnahme; darunter waren ungefähr 5000 Fälle von Unterleibstyphus, die, abgesehen von den sicheren klinischen Symptomen, bakteriologisch durch die Gruber-Widalsche Reaktion durchgehends als solche nachgewiesen wurden. Von Mai bis Juli 1905 sahen wir unter den für Typhus verdächtigen Fällen eine Anzahl exanthematischer Fieberfälle, die man ihren klinischen Symptomen nach glaubte als Typhus exanthematicus ansprechen zu dürfen. Von da ab wurden noch mehrfach Kranke der Art vom Schlachtfelde in der Mandschurei zurückgesandt; auch einige Rote-Kreuzschwestern, die auf einem Hospitalschiffe tätig waren, wurden von dieser Krankheit befallen. Um über das Wesen dieser eigentümlichen

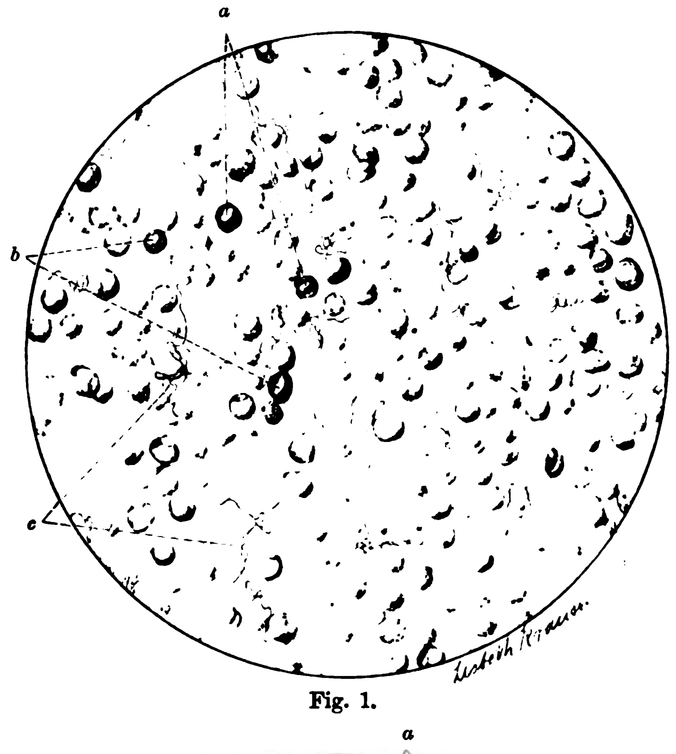


Fig. 1.

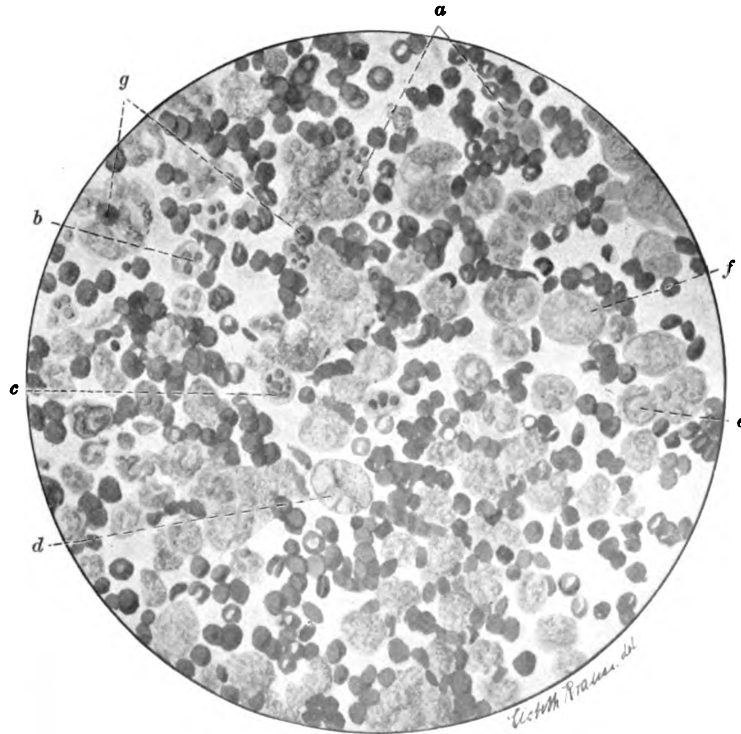


Fig. 2.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Erkrankung Klarheit zu bekommen und danach nicht nur die Therapie, sondern auch vor allem diesbezügliche prophylaktische Maßnahmen zur Bekämpfung derselben treffen zu können, wurde eine eigene Kommission gebildet unter dem Vorsitze des Generalarztes Dr. K. Ohnishi und des Oberstabsarztes Dr. H. Yamaguchi; sie gliederte sich in eine klinische, pathologisch-anatomische und bakteriologische Abteilung; mir fiel der bakteriologische Teil der Untersuchungen zu.

Zunächst einige kurze Angaben über das klinische Bild, das die Krankheit zeigte und die pathologisch-anatomischen Befunde, da die betreffenden japanischen Veröffentlichungen den deutschen Lesern kaum zugänglich sein dürften:

Die Krankheit beginnt meist plötzlich, gewöhnlich mit starkem Schüttelfrost; die Temperatur steigt binnen weniger Tage auf 39 bis 40° C und hält sich fast kontinuierlich 5—7 Tage auf dieser Höhe. Die Kranken machen einen schweren Eindruck, sind in den meisten Fällen mäßig somnolent, oft auch stellen sich leichte Delirien ein. Das Exanthem erscheint gewöhnlich zwischen dem dritten bis fünften Krankheitstage in Form einer mächtigen Roseola, die am ganzen Körper, auch im Gesichte, auftritt; das Zentrum mancher Roseolen wird hämorrhagisch. Der Magendarmkanal bietet keine auffallenden Erscheinungen, einmal wurde eine Darmblutung beobachtet.

Etwa nach 7 Tagen fällt die Temperatur, aber nicht kritisch wie bei der Pneumonie, noch lytisch wie beim reinen Typhus abdominalis, sondern staffelförmig in einigen Tagen bis zur Norm, wie dies die beigegebenen Kurven zeigen.

Es fanden sich auch einige Fälle, die in ihren Symptomen sonst ganz analog dem hier beschriebenen Typus waren, auch mit Typhus- und Paratyphusbacillen keine Gruber-Widalsche Reaktion gaben, bei denen aber ein Exanthem niemals während des ganzen Verlaufes der Krankheit beobachtet wurde. Doch glaubte ich, sie sicher als zu jener eigentümlichen Krankheit zugehörig rechnen zu dürfen, da sie mit unserem neugefundenen Bacillus allein deutlich das Agglutinationsphänomen gaben.

Was die pathologische Anatomie betrifft, so hatten wir leider nur bei zwei Fällen die Möglichkeit der Autopsie. In diesen beiden Fällen fanden sich bemerkenswerte Veränderungen nur in den Därmen, in dem einen Fall im Dickdarm, im anderen im unteren Drittel des Dünndarms eine leichte Anschwellung der Peyerschen Plaques, aber keine eigentliche markige Infiltration.

Wenn auch die klinischen Symptome die Diagnose auf Typhus exanthematicus sehr wahrscheinlich erscheinen ließen, so hieß es doch, mit dieser Diagnose vorsichtig zu sein, weil wir in der Mandschurei auffallend viele atypische Formen von Typhus abdominalis zu sehen Gelegenheit hatten.

Es galt nun, wenn möglich, den Erreger dieser Krankheit zu finden. Leider ist bis heute der einwandsfreie Nachweis des für den Typhus exanthematicus spezifischen Erregers noch nicht gelungen.

Mott fand 1883 eine Spirochätenart, Moreau und Cochez ein dem Typhusbacillus ähnliches Stäbchen im Blut solcher Kranken. Babes und Opescu wiesen im Leber- und Nierenblut einen Kapselbacillus nach, Levasceff eine anaërobe Spirochäte im Milz- und Fingerblut, Calmette 1893 einen den Urtilagineen zugehörigen Mikroorganismus im Milzblut. Afanasieff sah 1895 typhusähnliche Bacillen



in der Lymphe; Andere züchteten Streptokokken, Bacillus pseudodiphther., Bacillus pneumon., Vibrio proteus ruber und Proteus hominis capsulat. etc. aus Blut und Organ solcher Kranken.

1903 hat Professor Gotschlich eine Apiosomaart als Erreger des Typhus exanthematicus in einer vorläufigen Mitteilung angesprochen, seitdem aber nichts weiter darüber berichtet; seiner Arbeit lagen nur 6 Fälle dieser Art zugrunde, alle ganz leichter Natur, so daß keiner zur Sektion kam.

1905 hatte Kireeff in einem Moskauer Spital Gelegenheit, 25 Fälle von Flecktyphus eingehend zu studieren, konnte aber weder die Gotschlichschen apiosomaartigen Mikroorganismen finden, noch andere, die er als die Erreger dieser Krankheit glaubte bezeichnen zu können.

Da es also demgemäß bei unseren Fällen von vornherein unmöglich war, nach einem schon bekannten spezifischen Erreger zu fahnden, so konnte ich auch nicht entscheiden, ob hier typische Fälle von Typhus exanthematicus vorlagen oder eine ähnliche eigentümliche Fiebererkrankung, die etwa nur in der Mandschurei vorkäme, oder endlich eine anomale Form von Typhus oder Paratyphus.

Daher habe ich bei meinen Untersuchungen in erster Linie Typhus und Paratyphus bakteriologisch auszuschalten gesucht, dann besonders nach den Gotschlichschen Apiosomen geforscht und endlich vor allem mein Augenmerk auf die Entdeckung eines spezifischen Erregers gerichtet.

Zu diesem Zwecke entnahm ich allen in Frage stehenden Kranken während des ganzen Krankheitsverlaufes und der Rekonvaleszenz etwa alle 5—7 Tage Blut; dieses habe ich dann, sowie den Stuhl, den Harn, das Blut aus den Roseolen, endlich Milzstichsaft mit den verschiedensten üblichen Methoden bakteriologisch verarbeitet, auf den verschiedensten Nährböden, in Stich- und Strichkulturen, unter aëroben und anaëroben Verhältnissen.

Bei all diesen vielen Untersuchungen habe ich niemals Typhus- oder Paratyphusbacillen gefunden; auch die Gotschlichschen Körperchen konnte ich nicht nachweisen, obschon ich bei allen Kranken und bei dem durch die beiden Sektionen gewonnenen Material genauestens danach geforscht hatte.

Einigemal fand ich in Milz und Venenblut merkwürdige, nach Gram nicht färbbare Diplokokken, welche mit dem Serum der betreffenden Kranken in hundertfacher Verdünnung agglutinierten, aber auch mit dem gesunder Individuen, also nicht spezifisch waren. Auch einige andere verdächtige Stäbchen kamen mir zu Gesicht, denen indessen doch die nötigen Voraussetzungen, um als spezifische Erreger gelten zu können, fehlten. Als ich den Stuhl solcher Kranken auf Endoschem Fuchsinagar und dem Drygalski-Konradischen Nähragar kultivierte, fielen mir eigenartige Kolonieen auf, die zuerst ganz farblos, allmählich den Nährboden, wenn auch nur ganz schwach rötlich überzogen, bezw. bläuliche Kolonien bildeten, ganz wie bei Typhus und Paratyphusbacillen, die aber mit den Immunseris dieser Bacillen nicht agglutinierten.

Prüfte ich dann mit diesen Bacillenkulturen die Sera meiner Kranken auf ihr Agglutinationsvermögen, so zeigte sich das Agglutinationsphänomen bei 50—100-facher Verdünnung, in günstigen Fällen sogar bei über 500-facher Verdünnung binnen 30 Min. schon ganz deutlich.

Ich machte dann diese Untersuchungen in den verschiedensten Stadien der Krankheit, und fand, daß der Agglutinationstitre mit dem

allmählichen Krankheitsverlaufe anstieg; im Anfangsstadium der Rekonvaleszenz erreichte er seinen Höhepunkt und sank dann langsam wieder ab. Dies konnte ich bei allen Kranken, die an dieser eigenartigen Erkrankungsform litten, konstatieren.

I. Fall (Ichitsuka)	Serum von Patient (Ichikawa)	Krankheitstage									
		5.		9.		21.		29.		49.	
		2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Sdt.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
Neuer Bac.	50 : 1	++	+++	+++	+++	+	+++	+	+++	—	+
	100 : 1	±	+	+	+++	±	+++	±	+	—	±
	200 : 1	—	±	±	++						
Bac. typhi	50 : 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	100 : 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. paratyphi B	50 : 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	100 : 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

In einigen Fällen sah ich, daß die Sera der Kranken auch mit Typhus- und Paratyphusbacillen bei ca. 50-facher Verdünnung in zwei Stunden agglutinierten, ohne daß sich in diesen Fällen die entsprechenden Bacillen jemals nachweisen ließen. Es mußte dies als Gruppenagglutination aufgefaßt werden, da der neue, noch genauer zu beschreibende Bacillus zur Typhus- und Paratyphusgruppe gehört.

II. Fall (Tanaka) a. (Zimmertemperatur.) Datum 15. Dez.

	Serum von Patient	1 : 50	1 : 60	1 : 100	1 : 200
Neuer Bac.	1 Std.	+	±	±	±
	2 „	+++	++	++	++
	20 „				
Bac. typhi	1 Std.	—	—	—	—
	2 „	—	—	—	—
	20 „	—	—	—	—
Bac. paratyphi B	1 Std.	—	—	—	—
	2 „	—	—	—	—
	20 „	—	—	—	—

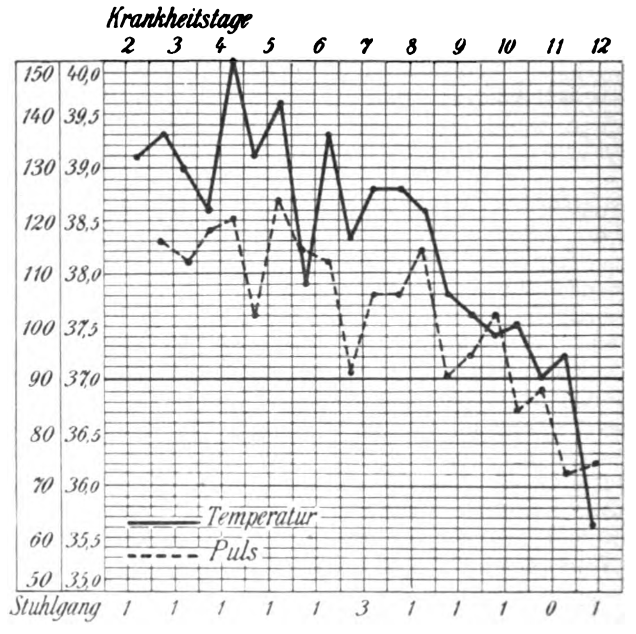
Fall II (Tanaka) b. Datum 18. Dez.

	1 : 50	1 : 100	1 : 150	1 : 300	1 : 450	1 : 600	1 : 900	1 : 1200	1 : 2400
1 Std.	+	±	—	—	—	—	—	—	—
2 „	+++	+	±	±	—	—	—	—	—
3 „	+++	++	+	±	—	—	—	—	—
20 „	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	±

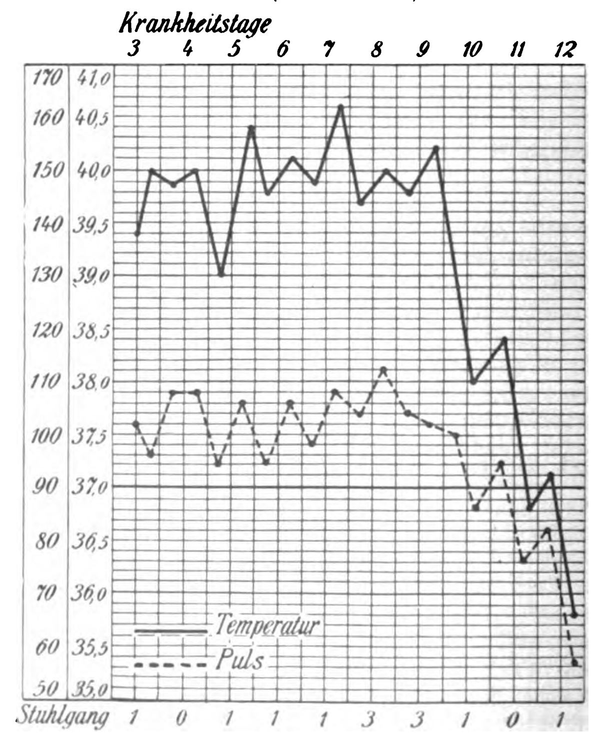
II. Fall (Tanaka) c. Datum 21. Dez.
Sofort nach dem Tode ist noch flüssiges Blut vom Herzen entnommen.

		1 : 30	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 300	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 3000	1 : 10000
euer Bac.	1 Std.	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—	—	—
	2 „					+++	++	±	—	—	—
	4 „						+++	±	—	—	—
	24 „							+++	++	±	—
ac. typhi	1 Std.	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2 „	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	4 „	+++	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	24 „		++	—	—	—	—	—	—	—	—

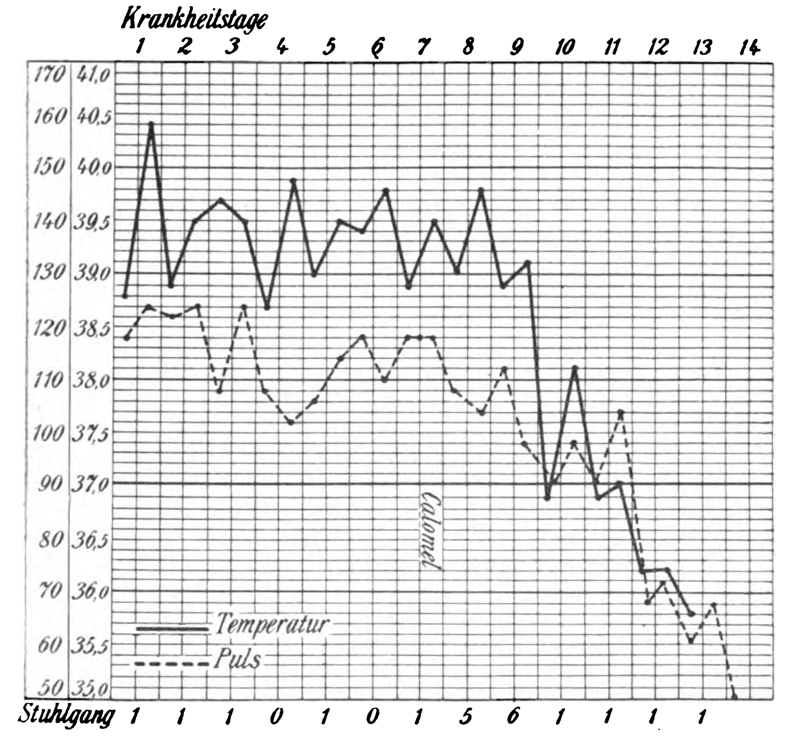
No. 1 (Patient B. K.).



No 2 (Patient G. J.).




No. 3 (Patient M. J.).



Um seine Spezifität zu kontrollieren, prüfte ich den gefundenen Bacillus mit den Seris von 22 Masernfällen und 2 Scharlachfällen, die gerade damals in unserem Hospital lagen, auf Agglutination; das Resultat war ein völlig negatives.

Ebenso konnte ich bei einer anderen Gelegenheit — ich wurde nämlich ins Schlachtfeld abkommandiert, um dort (bei Mukden, Tieling, Kai-Gen, Shoto) bei den gehäuften Typhusfällen, die daselbst vorkamen, die Natur derselben festzustellen, ob es sich um echten Typhus oder etwa um Typhus exanthematicus handele — bei ca. 500 Fällen, die ich mit meinem Bacillus auf Agglutination untersuchte, nie eine positive Reaktion feststellen; dagegen gelang dort fast immer der Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen.

Endlich gaben auch angestellte Versuche zwischen meinem Bacillus und dem Serum gesunder Menschen, unbehandelter Kaninchen und Ziegen nie einen positiven Ausschlag.

Der neue Bacillus, den ich, wie bereits gesagt, aus dem Stuhle der Kranken mir gezüchtet hatte, wurde nie im Blute oder Milzsaft, weder vor noch nach dem Tode aufgefunden, trotz der peinlichsten und wiederholt vorgenommenen Untersuchung bei den einzelnen Kranken. In 3 Fällen dagegen gelang es, aus dem Harne nahezu Reinkulturen desselben zu züchten.

Nach dem Vorausgegangenen glaube ich, mit Sicherheit den gefundenen Bacillus als den spezifischen Erreger jener eigentümlichen exanthematischen fieberhaften Krankheit in der Mandschurei, von der ich ca. 40 Fälle sah, betrachten zu dürfen. Dabei muß ich freilich die

Frage, ob diese Krankheit mit dem typischen Typhus exanthematicus identisch war, unentschieden lassen, kann also auch nicht behaupten, daß dieser Bacillus der tatsächliche Erreger des Typhus exanthematicus ist. Ich nenne einstweilen diese Erkrankung „Febris exanthematicus Mandschuricus" und den gefundenen Erreger derselben „Bac. febris exanth. Mandschurici".

Ich gehe nun zur eingehenden Schilderung des neuen Bacillus und seiner Eigenschaften über:

Der Bacillus ist ein meist kurzes, ziemlich plumpes, in der Regel sehr lebhaft sich bewegendes Stäbchen mit abgerundeten Enden. In den Kulturen kommen alle Formen vom kurzen Stäbchen bis zum langen Faden vor, namentlich in der Bouillonkultur entwickeln sich die Fäden sehr gut.

Seine Beweglichkeit ist am ausgesprochensten in jungen Bouillon- bezw. Agarkulturen; hier sieht man sehr lebhafte Eigenbewegungen an den kürzeren Stäbchen, an den Fäden ist sehr schön eine schlängelnde Bewegung, ebenso wie sie der Typhusbacillus aufweist, zu sehen. Die Fadenbildung ist weniger stark als beim Typhusbacillus.

Der Bacillus färbt sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen.

Er gedeiht auf allen gebräuchlichen Nährböden und wächst am besten unter aëroben Bedingungen, aber auch, wenn auch weniger gut, unter anaëroben.

Auf der Gelatineplatte erscheinen bei makroskopischen Besichtigung die oben aufliegenden Kolonieen anfangs klein, punktförmig, gelblich, nach kurzer Zeit rundlich, unregelmäßig oder zart gelappt. Die Mitte der Kolonie ist weißlich oder opak, graugelblich, zuweilen ein wenig erhaben, der Rand hell, durchscheinend grau. Die tiefliegenden Kolonieen sind punktförmig, später rundlich.

Bei 50-facher Vergrößerung erscheinen die oben aufliegenden Kolonieen bis etwa 48 Stunden homogen, fast ungefärbt, evtl. graugelblich, durchscheinend, der Rand meist lappig gebuchtet. Die Oberfläche ist wellig erhaben und hat zahlreiche in sich verzweigte, gewundene, weiße Streifen. Nach 2—3 Tagen sehen die tiefliegenden Kolonieen wegen ihres stark gelappten Randes wie Chrysanthemen oder Gänseblümchen, die oberflächlichen aber wie Weinblätter aus.

Der Gelatinestich ist fadenförmig, schwach gekörnt, weißlichgrau, äußerst durchscheinend, irisierend; die Oberfläche rundlich oder zackig, mattglänzend, nicht erhaben, gegen die Glaswand sich vorschiebend.

Auf der Agarplatte wachsen die oberen Kolonieen unregelmäßig oder rund, die Ränder teils glattrandig, meist aber gezackt, dünn und durchscheinend. Von der Mitte gehen in den meisten Fällen dunkelgelbe, gewundene oder zackige Streifen aus. Wenn man solche gezackte oder rundliche Kolonieen voneinander isoliert und sie wieder auf Platten sät, so wachsen doch auf den Platten, auf welche nur eine Art ausgesät wurde, wieder beiderlei Arten von Kolonieen; also ist die Verschiedenheit der Struktur der Kolonieen keine konstante Eigenschaft.

Der Agarstich ist fadenförmig, zuweilen etwas gekörnt, grau. Die Auflage unregelmäßig, rundlich, entweder glattrandig oder zackig, erreicht bald den Rand des Glasröhrchens.

In der Bouillonkultur entsteht ein getrübter mäßiger Bodensatz, der sich beim Schütteln homogen verteilt. Häutchenbildung findet nicht statt.

Der Bacillus koaguliert Milchkultur bei 37° gar nicht, aber

bisweilen findet man nach 1—2 Wochen — natürlich, ohne daß irgend eine Verunreinigung stattgefunden hat — eine schwache Koagulation oder ein Dickerwerden. Ich habe diese Beobachtungen seit 2 Jahren immer wieder gemacht, kann sie aber noch nicht sicher deuten. Vielleicht ist es von der Milchart abhängig. Im Thermostaten bei 23° koaguliert die Milchkultur absolut nicht, auch wenn man sie 3—8 Monate darin stehen läßt. Beim Sterilisieren der Milchnährböden bleiben nach meiner Erfahrung, trotz noch so vorsichtiger, regelmäßig unterbrochener Sterilisierung, doch einige sporenhaltige, hitzebeständige Keime, z. B. Heubacillen, übrig, und diese bedingen dann, vielleicht im Verein mit meinem Bacillus, manchmal die Koagulierung; andere Kontrollnährböden, die ganz ebenso hergestellt waren, blieben ohne meinen Bacillus ohne Koagulierung. Ich will auf diese auffallende Erscheinung bei anderer Gelegenheit noch eingehend zurückkommen.

Die Kartoffelkultur ist wellig umrandet, fast unsichtbar oder gelblich-weiß, anfangs feucht; sie erinnert ganz an das Wachstum des Typhusbacillus auf dieser Kultur. Nach etwa 40 Stunden verfärbt sich die Umgebung der Kolonie sehr oft violettblau.

Sporenbildung konnte nicht beobachtet werden.

Indolbildung fand sich in Bouillon und Peptonwasser schon nach 24 Stunden deutlich, was sehr wichtig ist, weil sich der Bacillus dadurch vom Typhus oder Paratyphusbacillus unterscheidet.

Traubenzucker wird von dem Bacillus vergoren.

Auf Lackmusmolkenkultur tritt nach einiger Zeit Blaufärbung des Nährbodens ein.

Auf dem Drygalski-Conradischen Lackmusmilchzucker-Agar wächst er ebenso wie der Paratyphusbacillus ohne Veränderung des Nährbodens in blauen Kolonieen.

Der Endosche Fuchsinagarnährboden bleibt bis zu 24 Stunden ganz farblos, dann färbt er sich ganz schwach rot in der Mitte; d. h. der Bacillus verhält sich diesen Nährböden gegenüber ganz wie der Typhus- und Paratyphusbacillus. Einen glänzenden Fuchsinfarbstoff scheidet die Kolonie selbst nach 10 Tagen noch nicht aus, entgegen dem Verhalten des Coli-Bacillus.

Bei dem Rothbergerschen Neutralrotagar tritt starke Gasbildung und nach 24—48 Stunden Fluoreszenz auf.

Mannit-Nutrose-Lackmusnährboden gerinnt in 30—40 Stunden und verfärbt sich rot.

Auf Malachitgrüngelatine wächst der Bacillus wie der Typhus- und Paratyphusbacillus.

Die Tierversuche ergaben folgendes Resultat:

Mäuse gingen nach Impfung einer $^1/_{20}$ Oese auf intraperitonealem Wege in 30 Stunden zugrunde.

Meerschweinchen zeigten sich gegen den Bacillus etwas stärker widerstandsfähig; sie starben bei Einimpfung von einer Oese noch nicht, bei zwei Oesen meist nach 30 Stunden.

Kaninchen ertrugen 2 Oesen, intraperitoneal eingeimpft, gingen aber bei $^1/_{10}$ Oese, intravenös einverleibt, schon nach 12 Stunden zugrunde.

Tauben erscheinen dem Bacillus gegenüber ganz refraktär, bei 2 bis 3 Oesen intraperitoneal verimpft, zeigte sich nur etwas Temperatursteigerung.

Ich habe mit dem neuen Bacillus Kaninchen immunisiert und bekam Immunsera von ziemlich hohem Titre, die noch bei 2000-facher Verdünnung

in 2 Stunden mit demselben Bacillus sehr deutliche Agglutination gaben. Ich habe dann mit diesem Serum folgende verschiedene, dem Typhus- oder Coli-Bacillus nahe verwandten Bacillengruppen auf Agglutination geprüft:

Coli I (aus der Sammlung des hygienischen Instituts München).
Coli II (aus dem pathologischen Institut München).
Coli III (aus der chirurgischen Klinik München).
Paratyphusbacillus A (Brion Kayser).
Paratyphusbacillus B (Saarbrücken).
Abdominaltyphusbacillus (aus dem hygienischen Institut).
Bac. pseudodysenteriae A.
Bac. pseudodysenteriae B.
Bac. psittacosis.
Bac. suipestifer (Neisser).
Bac. lactis aërogenes.
Bac. faecalis alcaligenes.
Bac. enteritidis.

Mit all diesen Bacillen zeigte das durch den neuen Bacillus gewonnene Immunserum, bei mehr als 100-facher Verdünnung, nach 2 Stunden (bei einer Temperatur von 37° im Brutofen) nie einen positiven Ausfall. Bei 100-facher Verdünnung zeigten erst nach 24 Stunden der Coli II, der Bac. pseudodysenteriae B, der Bac. psittacosis, der Bac. lactis aërogenes, der Bac. faecalis alcaligenes makroskopisch leichte Klärung der Aufschwemmung, aber keine echte Flockenbildung, mikroskopisch kein Zusammenballen der Keime, bei 400-facher Verdünnung nichts mehr; der homogene neue Bacillus dagegen gab selbst bei 2000-facher Verdünnung in 2 Stunden die charakteristische Agglutination sehr deutlich.

Zusammenfassung.

1) Bei meinen Untersuchungen der eigentümlichen fieberhaften exanthematischen Erkrankung in der Mandschurei, die klinisch die Diagnose Typhus exanthematicus nahe legte, konnte ich die Gotschlichschen Apiosoma-Arten trotz gründlichster Suche nach ihnen nicht finden.

2) Aus dem Stuhle und in einigen Fällen auch aus dem Harne dieser Kranken züchtete ich ein wohlcharakterisiertes Stäbchen, welches durch seine Agglutinationsreaktion mit dem Serum von dem Kranken, von dem es gewonnen wurde, oder anderer identischer Kranken sich als der spezifische Erreger dieser Erkrankung erwies.

3) Der Bacillus ist dem Paratyphus sehr ähnlich, unterscheidet sich aber von ihm durch die positive Indolreaktion.

4) Ich schlage vor, vorläufig die eigentümlich exanthematische Fiebererkrankung „Febris exanthematicus Mandschuricus“ und ihren Erreger „Bacillus febris exanthematici Mandschurici“ zu nennen.

5) Die Frage, ob unser Febris exanthematicus Mandschuricus mit dem echten Typhus exanthematicus identisch ist, und demnach der Bacillus febris exanthematici Mandschurici als Erreger des Typhus exanthematicus anzusprechen wäre, muß ich noch unentschieden lassen.

Anm.: Stämme dieses Bacillus sind vom hygienischen Institut München jederzeit erhältlich.

Experimentelle Leukämie bei Hühnern.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der königl. tierärztlichen Hochschule und dem königl. Frederiks Hospital, Abt. A, Kopenhagen.]

Von

V. Ellermann, und **O. Bang,**

Privatdozent, 1. Assistenten am königl. Frederiks-Hospital, Abt. A.

Tierarzt, Assistenten am Laboratorium.

Mit 4 Figuren.

Die Leukämie wurde als selbständige Krankheit zuerst von Virchow erkannt. Seitdem ist die Klinik und pathologische Anatomie dieser Krankheit sehr genau untersucht worden, speziell verdanken wir Ehrlichs Untersuchungen so außerordentlich viel auf diesem Gebiete. Ehrlich unterscheidet im normalen Blute zwei Arten von Leukocyten: die granulierten polymorphkernigen Leukocyten und die ungranulierten Lymphocyten. Hiermit übereinstimmend begegnet man zwei Formen von Leukämie, der lymphatischen und der gemischtzelligen, je nachdem die eine oder die andere Art der Leukocyten in Wucherung geraten ist. Es handelt sich bei der Leukämie nicht um eine einfache Vermehrung der Leukocyten im Blute, die Veränderung ist vielmehr sowohl eine quantitative wie eine qualitative, indem abnorme Zellformen in großer Zahl auftreten. Außer der Blutveränderung findet man bei der Leukämie Hyperplasie der blutbildenden Organe, Knochenmark, Milz, Lymphdrüsen. Diese Organe sind jedoch nicht sämtlich in jedem Falle angegriffen. Sehr häufig begegnet man Zellinfiltraten in verschiedenen Organen, insbesonderere in der Leber. Die Leberkapillaren sind gewöhnlich mit Leukocyten stark angefüllt.

Es gibt eine Krankheit, die mit der Leukämie die größte Aehnlichkeit hat, was die Organveränderungen betrifft; nur fehlt hier die Blutveränderung. Diese sogenannte Pseudoleukämie umfaßt vielleicht mehrere ätiologisch verschiedene Krankheiten, ein Teil der Fälle dürfte doch mit der echten Leukämie identisch sein.

Die Ursache der Leukämie ist unbekannt. Die meisten neigen wohl der Ansicht zu, daß die Krankheit einen parasitären Ursprung hat. Es gibt auch gewisse Erfahrungen, die für die Infektionstheorie sprechen könnten. Ein Erreger ist aber vorläufig nicht nachgewiesen. Löwit hat uns zwar Gebilde beschrieben, die er als Protozoen auffaßt, spätere Untersucher haben aber die parasitäre Natur dieser Körperchen nicht anerkennen können.

Eine andere Theorie ist von Banti aufgestellt worden. Banti meint, daß es sich um eine sarkomatöse Degeneration der blutbildenden Organe handelt. Gegen diese Theorie ist nun eingewendet worden, daß die Leukämie zwar eine geringe Aehnlichkeit mit den Neoplasmen hat, daß sie sich jedoch nicht ohne Zwang unter die echten Geschwülste einreihen läßt. Wir möchten uns denjenigen anschließen, welche meinen, daß die Leukämie anatomisch eine Sonderstellung einnimmt.

Es gibt gewisse klinische Beobachtungen, die vielleicht zugunsten der Infektionstheorie sprechen könnten. So gibt es eine ganze Reihe von Fällen, wo kleine Haus- oder Familienepidemieen von lymphatischer Leukämie gefunden wurden. Aehnliches gilt für die gemischtzellige Leuk-

ämie und für die Pseudoleukämie. Ferner sind Fälle bekannt, wo es sich wahrscheinlich um Ansteckung handelt. So berichtet Obrastzow von einem jungen Krankenwärter, der kurz nach dem Tode des Kranken, welcher an akuter lymphatischer Leukämie starb, Zeichen derselben Krankheit darbot und ebenfalls binnen kurzer Zeit verendete. Ein Fall von Ansteckung bei gemischtzelliger Leukämie ist von Cabot beschrieben worden.

Weder die klinische Beobachtung noch die anatomische Untersuchung haben die Frage der Aetiologie zu lösen vermocht. Wir haben nun gemeint, daß Tierexperimente vielleicht Aufschlüsse geben könnten, speziell müßte man ein günstiges Resultat erwarten können bei Einimpfung auf Tiere derselben Art. Leukämie ist bei mehreren Säugetieren (Pferd, Schwein, Hund u. a.) nachgewiesen worden. Impfversuche sind auch mehrfach gemacht worden, bisher jedoch ohne Erfolg. Als Versuchstiere haben wir Hühner angewandt. Dieselben sind billig und leicht zu haben: als Versuchstiere sind sie ebenfalls gut geeignet. Bei den Hühnern kommt nun, obwohl recht selten, eine Krankheit vor, die als typische

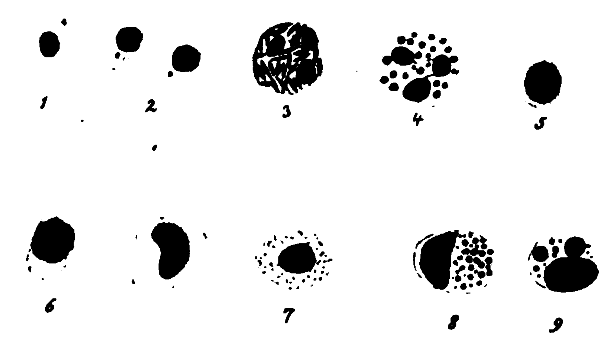


Fig. 1. Blutzellen. Leishman-Färbung. *1* Erythrocyt. *2* Blutplättchen. *3* Polynukleärer Leukocyt mit Stäbchen. *4* Polynukleärer Leukocyt mit Granula. *5* Lymphocyt. *6* Große mononukleäre Leukocyten. *7* Mononukleärer Leukocyt mit feinen violetten Granula. *8*, *9* Große mononukleäre granulierte Leukocyten bei Leukämie.

Leukämie aufgefaßt werden muß. Von dieser Krankheit lag in der Literatur keine Beschreibung vor. Zwar hatte Moore ein Krankheitsbild beschrieben, dem er den Namen „infektiöse Leukämie der Hühner“ gab. Es handelte sich jedoch zweifellos um eine bakterielle, akute Krankheit, die von Hyperleukocytose begleitet war und mit Leukämie nur eine entfernte Aehnlichkeit hatte. Fälle von leukämieähnlichen Krankheitsbildern sind von Butterfield und Yutaka Kon mitgeteilt worden. Eine Untersuchung des Blutes liegt jedoch nicht vor. Es gibt nun bei den Hühnern eine echte Leukämie mit typischem Blutbefund und Organveränderungen. Bevor wir einen Fall von dieser Krankheit besprechen, müssen wir in aller Kürze die Zahlenverhältnisse und die Morphologie des normalen Hühnerblutes mitteilen (Fig. 1). Die Trockenpräparate wurden nach Leishman gefärbt.

Die Erythrocyten sind große, ovale, flache Zellen mit einem ovalen dunklen Kern. Von Leukocyten findet man folgende Formen: 1) Polynukleäre Leukocyten. Dieselben haben einen dreigeteilten, lappigen Kern. Das Protoplasma ist farblos, enthält zahlreiche rotgefärbte, spindelförmige Stäbchen. 2) Zellen gleicher Art; nur ist das Proto-

plasma hellblau gefärbt, und enthält grobe, sehr blasse, rote Granula. 3) Lymphocyten. Dieselben sehen aus wie die Säugetierlymphocyten: der Kern ist rund, das Protoplasma sehr schmal. 4) Große mononukleäre Zellen. Kern rund oder oval. Protoplasma oft reichlich. 5) Große mononukleäre Zellen mit zahlreichen feinen, dunkelvioletten Körnchen im Protoplasma (Mastzellen?). Zählung im Trockenpräparate ergab: Polynukleäre 37 Proz., Lymphocyten 40 Proz., große Mononukleäre 23 Proz. Außer Erythro- und Leukocyten findet man im normalen Blute eine dritte Zellart, nämlich Blutplättchen. Es sind Zellen, die den Erythrocyten gleichen, aber kein Hämoglobin besitzen. Der Kern ist dunkel, oval. Das Protoplasma ist gewöhnlich ungefärbt, enthält Vakuolen und ein einzelnes, dunkelrot gefärbtes Körnchen. Wir haben keine Zählung dieser Elemente gemacht; sie sind anscheinend ebenso zahlreich wie die Leukocyten.

Was nun die absolute Zahl der Erythro- und Leukocyten betrifft, so begegnet die Zählung mittels Zählkammer großen Schwierigkeiten, weil die Unterscheidung der Elemente außerordentlich schwer oder eher unmöglich ist. Wir haben deshalb zuerst mittels Zählkammer die Totalsumme von Erythrocyten und Leukocyten bestimmt und dann nachher das Verhältnis $\frac{L}{E}$ im Trockenpräparate gefunden. Auf diese Weise bekamen wir folgende Zahlen:

Erythrocyten ca. 3 000 000 pro cmm
Leukocyten ca. 30 000 pro cmm

Das Verhältnis $\frac{L}{E}$ also $= \frac{1}{100}$

Hämoglobin (nach Sahli) 50—65. Junge Hühner oft nur 40—50.

Spontane Leukämie.

Wenden wir uns nun der Leukämie zu. Hierfür mag folgender Fall als Typus der spontanen Krankheit gelten.

Huhn Je I.

Dem Laboratorium im Mai 1907 eingesandt.

Die Untersuchung im Leben ergab: Hb 15, Erythrocyten 1 380 000, Leukocyten 600 000. $\frac{L}{E} = \frac{1}{2,3}$. Polynukleäre 1 Proz., Lymphocyten 15 Proz., große Mononukleäre 84 Proz. Die Erythrocyten oft etwas degeneriert, Kern geschwollen, Protoplasma bläulich (polychromatophile Degeneration). Die Blutplättchen sind sehr spärlich. Ziemlich häufig begegnet man Leukocyten mit Mitosen. Das Blutbild ist durch das Ueberwiegen der großen mononukleären Zellen ausgezeichnet (wie Fig. 2). Oft sieht man solche große Zellen mit zahlreichen Granula im Protoplasma, also Zellen, die im normalen Blute überhaupt nicht vorkommen. Sie müssen wohl als Myelocyten aufgefaßt werden. Auch die Granulabildung ist abnorm, indem man neben kleinen Körnchen wahre Riesengranula sieht.

Das Huhn wurde am 25. Mai 1907 getötet. Die Sektion ergab folgendes:

Milz etwas vergrößert, ca. 3 cm lang. Konsistenz gut. Schnittfläche ohne Zeichnung. Leber ebenfalls vergrößert, ca. doppelt so groß wie normal. Farbe etwas blaß, gelblich. An der Schnittfläche sind feine weiße Punkte und Striche zu sehen. Knochenmark in Femur und Tibia ziemlich fest, von blasser Farbe, graurot. In den Cruralvenen und in einer Mesenterialvene rote Thromben. Sonstige Organe blaß, ohne Besonderheiten.

Eine Emulsion der Leber, Milz und des Knochenmarks wurde 5 gesunden Hühnern eingeimpft. Stückchen der Organe wurden in Alkohol, Formol und Sublimat fixiert, in Paraffin eingebettet. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin, Methylenblau und nach Giemsa oder Leishman gefärbt. (Diese Technik wurde bei all den folgenden

Untersuchungen angewandt. Die Alkoholstücke eignen sich für Granulafärbung nicht, Alkohol wurde nur angewandt, um eventuelle Parasiten nachweisen zu können.)

Mikroskopische Untersuchung.

In der Leber sind die Veränderungen sehr in die Augen fallend. Die Kapillaren sind stark erweitert und mit Leukocyten vollgepfropft (Fig. 3). Die Leukocyten zeigen

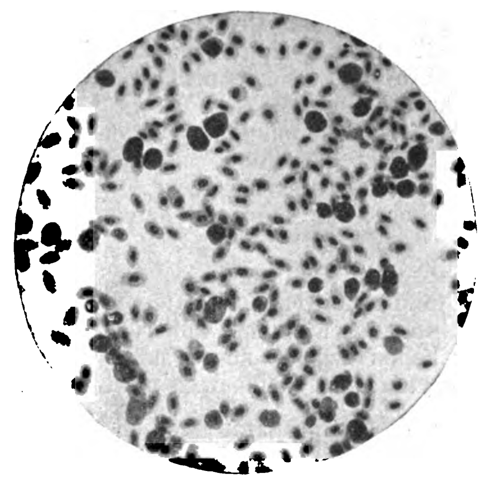


Fig. 2. Blut bei experimenteller Leukämie. Deutliche Vermehrung der Leukocyten. Nur große mononukleäre Zellen. 2 Mitosen.

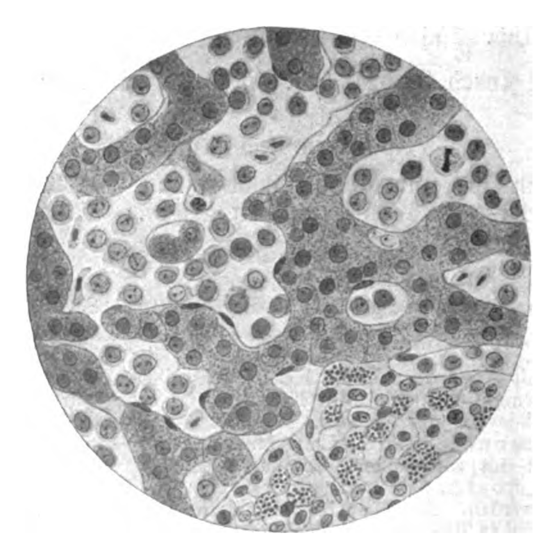


Fig. 3. Schnitt der Leber. Spontane Leukämie. Sublimat Leishman. Kapillaren stark erweitert, enthalten fast nur Leukocyten. Unten ein Infiltrat mit granulierten Zellen. Rechts oben eine Leukocytenmitose.

an vielen Stellen haufenweise auftretende mitotische Teilungen der Kerne. Zwischen den Leukocyten sind ganz spärliche Erythrocyten zu sehen. Das Bild ist von der normalen Leber sehr abweichend. Die Zellbalken der normalen Leber liegen ziemlich dicht aneinander, in den Kapillaren sieht man hier und da einige Erythrocyten. Bei der Leukämie bilden die leukocytengefüllten Kapillaren, deren Breite derjenigen der Leberzellenbalken gleichkommt oder sie sogar übertrifft, ein regelmäßiges, anastomosierendes Netzwerk. Die zweite Veränderung,

die der leukämischen Leber ihr Gepräge verleiht, sind die stark entwickelten Zell-infiltrate. Dieselben sind Zellmassen, die rund, länglich oder verästelt sind. Oft sieht man in ihrer Mitte ein Gefäß. Es ist sehr wahrscheinlich, daß sie überall als mantelförmiger Ueberzug der Portaästchen auftreten. Die Hauptmasse der Infiltratzellen sind mit roten Granula angefüllt, der Kern ist rund oder eingebuchtet. Vereinzelt sind Mitosen zu finden. In der normalen Leber sind solche periportale Zellinfiltrate auch vorhanden, aber immer nur ganz rudimentär. Sie enthalten ebenfalls in der normalen Leber granulierte Zellen. In den größeren Gefäßen der leukämischen Leber sind die Leukocyten sehr zahlreich, sie übertreffen sogar an Zahl die Erythrocyten.

Das Knochenmark im Femur bietet beim normalen Huhn folgendes Bild: Das Gewebe ist in Form von Strängen und Balken angeordnet, und in ihren Zwischenräumen finden die großen Bluträume ihren Platz. Das Gefäßepithel bekleidet also die Oberfläche der Gewebsstränge. Die letzteren enthalten spärliche Fettzellen und bestehen wesentlich aus Zellen mit roten Granula. In den Gefäßräumen sind fast ausschließlich Erythrocyten zu sehen, woher die stark rote Farbe des normalen Marks rührt. — Bei der Leukämie (Fig. 4) bieten die Gewebsbalken so ziemlich dasselbe Bild

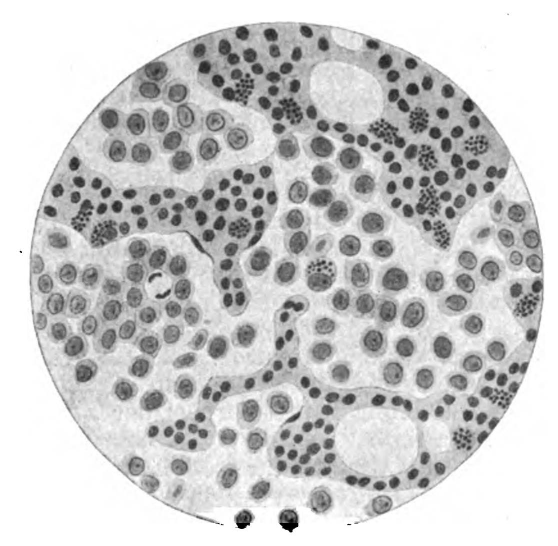


Fig. 4. Schnitt des Knochenmarks. Spontane Leukämie. Sublimat Leishman. Die Gewebsbalken enthalten Fettzellen und granulierte Zellen. Sie sind von Gefäßepithel überzogen, dessen Kerne stellenweise sichtbar sind. In den Bluträumen fast nur Leukocyten. Rechts eine Leukocytenmitose.

dar, wie unter normalen Verhältnissen. Die wesentliche Veränderung besteht darin, daß die Gefäßräume statt Erythrocyten Leukocyten enthalten mit einer geringen Beimischung von Erythrocyten. Die Leukocyten sind größtenteils ungranuliert. Leukocytenmitosen sind sehr zahlreich vorhanden.

Die normale Milz enthält ein Parenchym mit erythrocytengefüllter Kapillaren. Das lymphoide Gewebe ist in Form von schmalen Strängen angeordnet, welche die Arterien umgeben. Mitosen nur spärlich. Bei der Leukämie ist das Bild bei schwacher Vergrößerung fast gleich. Bei starker Vergrößerung fällt auf, daß außer den kleineren dunklen Parenchymkernen sehr viel große, blasse Leukocyten vorhanden sind. Sehr zahlreiche Mitosen. Hier und da granulierte Zellen. Bild schwer zu deuten, jedenfalls besteht eine große Aehnlichkeit mit dem Knochenmark, indem Stränge mit kleineren Kernen von erweiterten leukocytengefüllten Kapillaren umgeben werden.

Huhn Je II

wurde gleichzeitig mit dem vorigen von derselben Stelle eingesandt. Makro- und mikroskopisch genau derselbe Befund. Blut ebenfalls leukämisch.

Wenn man nun dies Krankheitsbild betrachtet, so ist die Aehnlichkeit mit der menschlichen Leukämie ja sehr in die Augen fallend.

Was erstens die Blutveränderung betrifft, so haben wir ja nicht bloß eine starke Zunahme der Leukocyten (600000 pro cmm), sondern die Veränderung ist auch eine qualitative, indem die großen Mononukleären die Hauptmasse, nämlich 84 Proz. sämtlicher Leukocyten, bilden. Ferner treten abnorme Zellformen, mononukleäre granulierte im Blute auf. Dieselben sind wahrscheinlich als Myelocyten aufzufassen.

Auch die Organveränderungen gleichen in hohem Maße den bekannten leukämischen. Die Leber und Milz sind geschwollen, das Knochenmark verändert. Die Zellinfiltrate der Leber, die Leukocytenanhäufung in Leber- und Knochenmarkskapillaren sind bei der menschlichen Leukämie gut bekannt. Es liegt uns fern, zu behaupten, daß der Prozeß in allen Einzelheiten beim Menschen und beim Huhn identisch sei. Anatomische und physiologische Verschiedenheiten bedingen natürlich eine verschiedene Gestaltung. Die Leukocytenproliferation in den Leberkapillaren ist z. B. beim Huhn besonders stark hervortretend. Im ganzen muß man jedoch sagen, daß die Krankheit beim Huhn eine echte Leukämie ist, und daß man berechtigt ist, aus den Versuchen mit der experimentellen Leukämie auf die menschliche Pathologie zu schließen.

Experimentelle Leukämie.

Für die Impfversuche wurden Stücke von Leber, Milz und Knochenmark mit 0,9-proz. Kochsalzlösung in sterilem Mörser verrieben und die Emulsion gesunden Hühnern intravenös eingespritzt. In einigen Versuchen wurde ausschließlich Knochenmark, in anderen wieder nur Leber angewendet, das Resultat schien aber dasselbe zu sein, ob das eine oder andere Organ verwendet wurde. Die Ueberführung ist bisher in 3 Generationen geglückt. Das Resultat ist in beistehender Tabelle aufgeführt. Den besten Erfolg hatten wir bei der zweiten Impfung mit 100 Proz. Anschlag.

	Geimpfte Tiere	Positives Resultat
1. Generation	5	2
2. „	6	6
3. „	11	6

1. Generation (mit Organen des Falles Je. I geimpft).

Huhn 223.

Am 25. Mai 1907 intravenös, 2 ccm Knochenmarkemulsion.

Am 9. Aug. 1907 ($2^1/_2$ Monat nach der Impfung) Hb 35. Blutpräparat zeigt eine leichte Vermehrung der Leukocyten.

Am 27. Aug. 1907 (3 Monate nach der Impfung) Hb 20. Blutpräparat ergibt deutliche Leukämie.

Leukocyten 179000, Erythrocyten 1485000; $\frac{L}{E} = \frac{193}{1787} = \frac{1}{9}$; Poly 3 Proz., Lympho 15 „, Gr. Mono 82 „

Die großen Mononukleären sind also vorherrschend. Mononukleäre granulierte Zellen sind etwas spärlich. Ziemlich zahlreiche Mitosen (in einem Präparate z. B. 25). Blutplättchen fehlen.

29. Aug. 1907 gestorben.

Sektion: Um die Leber herum liegt ein großes Blutcoagulum von einer Leberruptur herrührend. Leber sehr groß, Länge des rechten Lappens 8,5 cm. Farbe blaß. Zeichnung gleichartig, undeutlich weißlich punktiert. Mikroskopie: Kapillaren erweitert und mit Leukocyten stark angefüllt. Erythrocyten spärlich. Ziemlich zahlreiche Leukocytmitosen. Infiltrate spärlich und schwach entwickelt. In den größeren Gefäßen sehr zahlreiche Leukocyten. Milz etwas vergrößert. Länge 3 cm, Breite 2,5 cm. Schnittfläche ohne Zeichnung. Mikroskopisch: Vermehrung der Leukocyten. Zahlreiche Mitosen. Zerstreute granulierte Zellen. Knochenmark (Femur) blaßrot, himbeergeleeähnlich, an einigen Stellen fast flüssig. Die mikroskopische Untersuchung ergibt in den Kapillaren reichlich Leukocyten, oft in mitotischer Teilung, spärlicher Erythrocyten.

Das Gewebe sehr locker zusammengefügt (Oedem?). Nieren blaß. Mikroskopisch: Kapillaren stellenweise mit Leukocyten stark gefüllt.

Wir haben also bei diesem Huhn dasselbe Bild wie bei der spontanen Krankheit: Leukämisches Blutbild und Organveränderungen. Es fehlen nur die großen Zellinfiltrate der Leber. Das Knochenmark bot zwar makroskopisch ein anderes Bild dar, indem es von sehr weicher Konsistenz war. Die Mikroskopie ergab jedoch dasselbe Bild wie bei Huhn Je I.

Mit Organemulsion von diesem Huhn wurden 6 gesunde Hühner geimpft.

Huhn 300.

Am 25. Mai 1907 mit 6 ccm Milz-Leberemulsion geimpft, nämlich 2 ccm subkutan, 2 ccm intravenös, 2 ccm intraperitoneal.

Am 5. Aug. 1907 ($2^1/_2$ Monat nach der Impfung) Hb 20 $\frac{L}{E} = \frac{80}{855} = \frac{1}{11}$ { Poly 6 Proz., Lympho 39 „, Gr. Mono 55 „

Im Blutpräparate sind Leukocytmitosen und granulierte mononukleäre Leukocyten vorhanden.

27. Aug. 1907 (3 Monate nach der Impfung) Hb 60. Blutpräparat ergibt normale Verhältnisse.

17. Sept. 1907 ($3^3/_4$ Monate nach der Impfung) Hb 25. Blutbild wie am 5. Aug. 1907.

23. Sept. 1907 (4 Monate nach der Impfung) Hb 15 Mäßige Zunahme der Leukocyten { Poly 11 Proz., Lympho 29 „, Gr. Mono 60 „

4. Okt. 1907 ($4^1/_3$ Monate nach der Impfung) Hb 30. Blutbild fast normal.

17. Okt. 1907 ($4^3/_4$ Monate nach der Impfung) Hb 45. Blutbild normal.

Das Huhn wurde getötet.

Sektion ergab: Leber von normaler Größe und Aussehen. Gewicht 30 g. Mikroskopische Untersuchung zeigt normale Verhältnisse. Keine Leukocyten in den Kapillaren, Leberzellenbalken dicht aneinander liegend. Keine Infiltrate. Milz von normalem Aussehen. Gewicht 4 g. Mikroskopisch nichts. Knochenmark dunkelrot. Das Bild mikroskopisch normal.

Es handelt sich also hier um einen sehr wechselnden Verlauf, indem das Blutbild bald normal ist, bald deutliche Zeichen einer leichten Leukämie darbietet. In der letzten Zeit besserte sich der Zustand, Hämoglobinmenge und Blutbild wurden normal. Die Sektion ergab normale Organe. Wir halten uns berechtigt zu der Annahme, das Tier sei leukämisch gewesen, daß aber eine spontane Heilung eingetreten ist.

Huhn 264.

Am 25. Mai 1907 2 ccm Knochenmarkemulsion intravenös.

6. Aug. 1907 Hb 60. Blutpräparat normal.

21. Sept. 1907 Hb 55. Blutpräparat normal.

4. Okt. 1907 ($4^1/_3$ Monate nach der Impfung) Blut normal; getötet.

Sektion: Gut genährt. Organe sowohl makro- wie mikroskopisch normal.

Huhn 269.

Am 25. Mai 1907 mit 6 ccm Leber-Milzemulsion geimpft, und zwar 2 ccm subkutan, 2 ccm intravenös, 2 ccm intraperitoneal.

9. Aug. 1907 Hb 50. Blutbild normal.

21. Sept. 1907 Hb 60.

17. Okt. 1907 getötet.

Sektion: Gut genährt. Organe sowohl makro- wie mikroskopisch normal.

Huhn 289.

Am 25. Mai 1907 mit 4 ccm Knochenmarkemulsion geimpft, nämlich 2 ccm subkutan, 2 ccm intraperitoneal.

9. Aug. 1907 Hb 65. Blutbild normal.

21. Sept. 1907 Hb 60.

4. Okt. 1907 ($4^1/_3$ Monat nach der Impfung) Blutpräparat normal. Getötet.

Sektion: Gut genährtes Huhn. Organe makro- und mikroskopisch ganz normal.

Bei diesen 3 Tieren haben wir also keine Krankheitszeichen, speziell keine Anämie oder Leukämie entdecken können. Da die Sektion ferner ganz normale Organe darbot, haben wir diese 3 Versuche als negativ aufgeführt.

2. Generation[1]. (Mit Organen des Huhn 233 geimpft.)

Huhn 103.

Am 29. Aug. 1907 mit 4 ccm Knochenmarkemulsion in travenös geimpft.

Tag	Hb	Blutbild
6. Tag	Hb 50.	Blutbild normal
23. „	„ 50.	„ „
36. „	„ 40.	„ „
42. „	„ 35.	Leichte Vermehrung der Leukocyten
46. „	„ 20.	Leukämie
47. „	Getötet	

Erythrocyten 1 130 000

Leukocyten 163 000 { Poly 5 Proz., Lympho 2 „, Gr. Mono 93 „

$\frac{L}{E} = \frac{1}{8}$

Im Blutpräparate war am 42. Tag eine leichte Vermehrung der Leukocyten, vorzugsweise der großen mononukleären, wahrnehmbar. Am 46. Tag war die Leukämie ausgeprochen. Die großen Mononukleären beherrschen das Bild. die polynukleären Leukocyten sind spärlich. Ebenfalls sind die Blutplättchen spärlich. Es sind ziemlich reichlich granulierte mononukleäre Leukocyten vorhanden. Ferner findet man Leukocytenmitosen.

Sektion: Das Huhn ist mager. Leber vergrößert. Länge des rechten Lappens 7,5 cm. Gewicht 47 g. Farbe blaß, etwas gelblich. Mikroskopisch: Kapillaren erweitert, mit Leukocyten stark angefüllt. Zahlreiche Leukocytmitosen. Erythrocyten in geringer Zahl zwischen den Leukocyten. In den größeren Gefäßen überwiegen die Leukocyten. Milz etwas vergrößert. Länge 2,5 cm. Gewicht 4,2 g. Knochenmark blaßrot, ziemlich weich. Mikroskopisch: Gewebe wie gewöhnliche Fettzellen und granulierte Zellen enthaltend. In den Gefäßräumen sehr zahlreiche Leukocyten, spärliche Erythrocyten. Viele Leukocytenmitosen. Lunge: In den Kapillaren relativ viele Leukocyten.

Es handelt sich also hier um eine Leukämie, die der spontanen Krankheit vollständig gleicht. Blutbild und anatomische Veränderungen stimmen überein. Es fehlen nur die großen Infiltrate der Leber.

Huhn 105.

Am 29. Aug. 1907 mit 2 ccm Knochenmarkemulsion intravenös geimpft.

Tag	Hb	Blutbild
6. Tag	Hb 30.	Blutbild normal
23. „	„ 50.	„ „
36. „	„ 20.	Vermehrung der großen Mono
42. „	„ 20.	Vermehrung der großen Mono
46. „	„ 30.	Leichte Leukämie
56. „	„ 20.	„ „
63. „	„ 30.	Leukoc. abnehmend
70. „	„ 42.	Unverändert
84. „	„ 42.	„
104. „	„ 42.	„
116. „	Gestorben	

Erythrocyten 1 302 000

Leukocyten 118 500 { Poly 16 Proz., Lympho 9 „, Gr. Mono 75 „

$\frac{L}{E} = \frac{1}{11}$

Sektion: Organe nicht blaß. Leber von normalem Aussehen. Mikroskopische Untersuchung ergibt ganz normales Bild. Kapillaren gewöhnlich leer ohne Lumen. Stellenweise Erythrocyten in den Kapillaren. Keine Infiltrate. Milz klein. Gewicht 1 g. Knochenmark von fast normaler Farbe. Im Ausstrichpräparat viele große mononukleäre Zellen. Die Schnitte bieten ein etwas zweifelhaftes Bild dar, man hat den Eindruck, daß eine mäßige leukämische Veränderung vorhanden ist, indem die Bluträume viele Leukocyten enthalten. An anderen Stellen ist das Mark ganz normal. Nieren und Lungen ohne Besonderheiten.

1) Diese 6 Hühner sämtlich jung, nicht erwachsen, was bei der Beurteilung von Größe und Gewicht der Organe berücksichtigt werden muß.

Obwohl die Sektion in diesem Falle nur leichte leukämische Veränderungen des Knochenmarks ergab, so können wir doch mit Rücksicht auf das klinische Bild behaupten, daß das Tier leukämisch gewesen ist. Diese Krankheit muß wohl auch die Todesursache gewesen sein. Jedenfalls wurde keine andere nachgewiesen.

Huhn 130.

Am 29. Aug. 1907 mit 4 ccm Knochenmarkemulsion intravenös geimpft.

6. Tag	Hb 50.	Blutbild normal
23. „	„ 17.	Leichte Vermehrung der großen mono. L.
25. „	Gestorben	

Sektion: Leber vielleicht ein wenig vergrößert. Gewicht 31 g. Mikroskopisch: Keine deutliche Veränderung. Kapillaren vielleicht ein wenig weiter und leukocytenreicher als normal. Milz von normaler Größe und Farbe. Länge 2 cm. Knochenmark rot, jedoch blasser als normal. Mikroskopisch: Sehr reichlich Leukocyten in den Gefäßräumen, oft Mitosen. Bild wie bei der typischen Leukämie.

Es handelt sich also hier um ein Huhn, das unter dem Bilde einer Anämie stirbt. Die leukämische Blutveränderung nur andeutungsweise vorhanden. Anatomisch findet man eine leukämische Veränderung des Knochenmarks, sonst keine der gewöhnlichen Erscheinungen.

Huhn 144.

Am 29. Aug. 1907 mit 4 ccm Leber-Milzemulsion geimpft, und zwar 2 ccm intravenös, 4 ccm subcutan.

6. Tag	Hb 50.	Blutbild normal
23. „	„ 40.	„ „
31. „	Gestorben	

Sektion: Organe blaß. Blut hell. Ekchymosen im Pericardium. Leber sehr bedeutend vergrößert. Länge des rechten Lappens 8 cm. Gewicht 61 g. Farbe blaß, an der Schnittfläche ganz feine weiße Pünktchen. Mikroskopisch sind die Kapillaren stark erweitert. Der Inhalt wird von Leukocyten zu ca. $^2/_3$, von Erythrocyten zu $^1/_3$ gebildet. Leukocytenmitosen vorhanden. In den größeren Gefäßen sehr zahlreiche Leukocyten. Keine Infiltrate. Milz etwas vergrößert. Länge 2,8 cm. Gewicht 4,2 g. Knochenmark blaßrot, von fester Konsistenz. Die Gefäße enthalten sehr reichliche Leukocyten mit einer geringen Menge von Erythrocyten vermischt.

Die Organe haben in diesem Falle makro- und mikroskopisch das typische Aussehen. Trotzdem gelang es nicht, im Leben eine Anämie oder Leukämie zu finden. Es läßt sich aber nicht leugnen, daß eine solche kurz vor dem Tode aufgetreten sein könnte, da die letzte Untersuchung 8 Tage vor dem Tode stattfand.

Huhn 161.

Am 29. Aug. 1907 mit 6 ccm Leber-Milzemulsion geimpft und zwar 2 ccm intravenös, 4 ccm subkutan.

6. Tag	Hb 45.	Blutbild normal	
23. „	„ 40.	„ „	Erythrocyten 1 202 000
36. „	„ 25.	Zunahme der großen Mono	
42. „	„ 38.	Leichte Leukämie	Leukocyten 445 000 {Poly 2 Proz., Lympho 4 „, Gr. Mono 94 „}
46. „	„ 38.	„ „	
56. „	„ 18.	„ „	
63. „	„ 15.	Starke Leukämie	$\frac{L}{E} = \frac{1}{3}$
67. „	Getötet		

Das Blut bietet in allen Einzelheiten dasselbe Bild dar, wie bei der spontanen Krankheit. Granulierte mononukleäre Zellen sind häufig, Mitosen vereinzelt vorhanden.

Sektion: Huhn etwas mager. Leber vergrößert. Gewicht 55 g. Farbe blaßgelblich. Mikroskopisch: Die Kapillaren von Leukocytenmassen ausgedehnt. Reichlich Mitosen. Spärliche Erythrocyten. In den größeren Gefäßen fast ausschließlich Leukocyten. Keine Infiltrate. Milz etwas vergrößert. Mikroskopisch: Zerstreute granulierte Zellen, oft Mitosen. Knochenmark graurot, ziemlich fest. Mikroskopisch: In den Gefäßen wesentlich nur Leukocyten. Zahlreiche Mitosen.

In diesem Versuche haben wir eine stark ausgesprochene Leukämie hervorgerufen; der Wert $\frac{L}{E}$ erreicht hier die Höhe $\frac{1}{3}$. Es muß hervorgehoben werden, daß der starken Leukämie ein Stadium mit geringer Blutveränderung vorangeht. Aehnliches ist bei der menschlichen Leukämie öfters beobachtet worden. Die anatomischen Veränderungen sind typisch und unterscheiden sich von den bei den vorigen gefundenen in keiner Weise.

Huhn 162.

Am 29. Aug. 1907 mit 4 ccm Leber-Milzemulsion geimpft, und zwar 2 ccm intravenös, 4 ccm subkutan.

6. Tag Hb 50. Blutbild normal
22. „ Gestorben.

Sektion: Recht gut genährt, Organe etwas blaß. Leber stark vergrößert. Gewicht 75 g. Länge des rechten Lappens 9 cm. Farbe graugelblich. Die ganze Oberfläche mit einer dünnen durchscheinenden Fibrinhaut bedeckt, welche am hinteren Rande in eine dickere Fibrinmasse übergeht. Sonst keine Peritonitis. Schnittfläche der Leber etwas bunt mit zahlreichen feinen weißen Punkten und Strichen. Mikroskopisch: Kapillaren stark erweitert, oft breiter als die Zellbalken. Den Inhalt bilden bald Leukocyten allein, bald Leuko- und Erythrocyten zu gleichen Teilen. Recht zahlreiche Leukocytenmitosen. Stellenweise Anhäufungen von polynukleären Leukocyten. Perivaskuläre Zellinfiltrate etwas vergrößert. Ferner sind zahlreich vorhanden eigentümliche, bindegewebsähnliche blasse Flecke, die Kapillaren und Reste von Leberzellen enthalten. In den größeren Gefäßen gleich viele Leuko- und Erythrocyten. Unter diesen Leukocyten machen die polynukleären nur einige Prozente aus. Die übrigen sind große mononukleäre Zellen. Milz etwas vergrößert, mißt 2,3 cm. Knochenmark graurötlich, etwas weich. Mikroskopisch ergibt sich Anfüllung der Gefäßräume mit Leukocyten. Viele Mitosen.

Die Krankheit hat in diesem Falle sehr schnell zum Tode geführt. Wir besitzen leider keine Blutuntersuchung aus der letzten Zeit vor dem Tode. Die Anschwellung der Leber ist sehr bedeutend, so daß man von einer Hepatitis mit fibrinöser Perihepatitis zu reden geneigt wäre.

An dieser Stelle möchten wir kurz die einzelnen Glieder des krankhaften Prozesses und unsere Auffassung derselben besprechen. Wir wollen also folgende Erscheinungen der Reihe nach betrachten: 1) die Leukocytenproliferation in den Kapillaren; 2) die Anämie; 3) die leukämische Blutveränderung; 4) die Infiltrate.

Die Leukocytenproliferation in den Kapillaren.

Diese Erscheinung fassen wir als den zentralen Punkt der Krankheit auf. Man findet sie in allen Fällen im Knochenmark; auch die Leberkapillaren sind der Sitz einer starken Leukocytenwucherung, die bei diesen Tieren mehr als beim Menschen in die Augen fällt. Die sehr reichlich vorhandenen Mitosen beweisen, daß die Wucherung an Ort und Stelle stattfindet, und daß die Leukocyten nicht etwa vom Blute abgesetzt werden. Es handelt sich bei der experimentellen Leukämie um einen wesentlich intravaskulären Prozeß. Das Bild ist ja in der Leber außerordentlich leicht zu deuten im Gegensatz zum leukämischen Knochenmark. Beim normalen Knochenmark sind die Gewebsbalken und die Bluträume voneinander ohne Schwierigkeit zu unterscheiden. Bei der Leukämie kann das Bild sehr schwer verständlich sein, weil Bluträume und Gewebsbalken einander gleichen. Das Blutgefäßepithel ist nicht immer leicht zu sehen. Man kann auf zweierlei Weise die Struktur zum Vorschein bringen: 1) Bei Alkoholfixierung schrumpft der Gefäßinhalt etwas und läßt die Grenze gegen das Gewebe

erkennen. 2) Bei Sublimat- oder Formolfixierung und Granulafärbung (z. B. nach Leishman) treten die Gewebsbalken als rote Massen auf (rote Granula!), den Gefäßinhalt bilden die blauen Leukocyten.

Es erhebt sich die Frage, warum bleiben die Leukocyten in den Kapillaren der Leber liegen? Warum werden sie nicht vom Blutstrom fortgeschwemmt? Man könnte vielleicht an eine chemotaktische Wirkung denken. Eine andere Erklärung wäre die, daß eine Agglutination der Leukocyten vorliege. Vorläufig lassen sich nur Hypothesen aufstellen; die Zirkulation der Leber muß jedenfalls sehr verringert sein.

Auch in den Kapillaren der Nieren und der Lunge sieht man stellenweise etwas Leukocytenanhäufung. In den peripheren Kapillaren ist eine solche nicht vorhanden.

Die Anämie.

Dieses Symptom scheint ganz konstant zu sein. Sowohl eine Verminderung der Erythrocytenzahl wie eine Herabsetzung des Hämoglobinwertes sind vorhanden. Die ausgesprochene leukämische Blutveränderung trifft immer mit starker Anämie zusammen (Hb ca. 20). Für die Entstehung der Anämie kommen nur zwei Möglichkeiten in Betracht. Entweder ist die Produktion von Erythrocyten herabgesetzt, weil die Leukocytenbildung so viel Platz und Stoff in Anspruch nimmt, oder die fertigen Erythrocyten werden durch die Anwesenheit hämolytischer Gifte zerstört. Bei der letzten Annahme müßte man eine Anhäufung von Eisen in den inneren Organen wohl erwarten.

Die leukämische Blutveränderung.

Dieselbe muß als ein sekundäres Symptom aufgefaßt werden. Eigentlich leukämisches Blut fanden wir nur bei 2 Tieren der zweiten Generation (No. 103 und 161). Bei den Tieren, die schnell verendeten, bot das Blut nur eine leichte Zunahme der Leukocyten dar. Gegen den Einwand, daß die Blutveränderung immerhin kurz vor dem Tode eingetreten sein konnte, müssen wir hervorheben, daß wir Fälle besitzen (No. 103 und mehrere Tiere anderer Reihen), wo das Blut kurz vor dem Tode untersucht wurde und keine Leukämie darbot. Wenn die leukämische Blutveränderung ausgesprochen ist, besteht immer eine starke Anämie; andererseits haben wir Fälle gehabt mit starker Anämie, aber nur geringer Leukocytenzunahme. Die leukämische Blutveränderung ist also an sich für die Krankheit nicht charakteristisch, was auch aus der menschlichen Pathologie bekannt ist. Begegnet man beim Menschen den aleukämischen Fällen, so ist die Diagnose schwer oder unmöglich, indem es schwer zu sagen ist, ob es sich um beginnende Leukämie, Pseudoleukämie oder Anämie handelt.

Es sieht also aus, als wären es mehr zufällige Umstände, welche die leukämische Blutveränderung hervorrufen. Man könnte sich den Vorgang vielleicht so denken, daß die Leukocyten der großen Depots losgerissen (Fehlen von Agglutininen?) und ins Blut fortgeschwemmt wurden. Der Umstand, daß die Depots der Leber in Fällen ausgesprochener Leukämie relativ klein, dagegen bei der Pseudoleukämie der Hühner sehr groß sind, könnte vielleicht so verwertet werden. Was aber entschieden von Bedeutung ist, das ist die Vermehrung der Leukocyten im strömenden Blute. Die zahlreichen Mitosen erklären die überaus schnelle Zunahme der Leukocyten. In wenigen Tagen wird das

Blut leukämisch, was mit Beobachtungen aus der menschlichen Pathologie ganz übereinstimmt.

Die Zellinfiltrate.

Mit Bezug auf diesen Punkt können wir kurz sein. Bei der spontanen Krankheit sind die Infiltrate sehr gut ausgebildet. Bei der experimentellen Leukämie dagegen sind die Infiltrate entweder sehr geringfügig oder sie fehlen ganz. Wir müssen infolgedessen schließen, daß die leukämischen Infiltrate erst später bei der Krankheit auftreten. Was ihren Ursprung betrifft, so stehen bekanntlich zwei Ansichten einander gegenüber. Die einen nehmen an, daß die Ablagerung eine metastatische sei, d. h. daß die Zellen vom Blut herrühren. Nach der anderen Ansicht handelt es sich um eine Hyperplasie eines präexistierenden Gewebes. Diese letzte Ansicht dürfte wohl bei der Leukämie der Hühner der Wahrheit am nächsten kommen, weil ein granuliertes Gewebe schon im normalen Zustande um die Gefäße liegt.

Was die dritte Impfgeneration betrifft, so haben wir schon früher die Anzahl der positiven Resultate angegeben. Die Einzelheiten der Versuche müssen künftigen Veröffentlichungen vorbehalten werden.

Pseudoleukämie der Hühner.

Diese Krankheit zeichnet sich durch dieselben Veränderungen wie die echte Leukämie aus. Die Anschwellung der Milz und der Leber ist oft sehr bedeutend. Das Blut ist nicht leukämisch. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Krankheit mit der Leukämie ätiologisch identisch ist. In den kleinen Epidemieen von Leukämie kommen auch Fälle von Pseudoleukämie vor. Als Beispiel möchten wir folgende zwei Fälle kurz besprechen. Es handelt sich um zwei Hühner, die gleichzeitig aus demselben Orte im März 1906 eingesandt wurden:

Huhn Ste I (Leukämie).
Sehr mager und blaß.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{5} \quad \begin{matrix} \text{Erythrocyten} & 915\,000 \\ \text{Leukocyten} & 183\,000 \end{matrix} \quad \begin{cases} \text{Poly} & 2 \text{ Proz.} \\ \text{Lympho} & 10 \text{ „} \\ \text{Gr. Mono} & 88 \text{ „} \end{cases}$$

Blutbild typisch. Granulierte mononukleäre Zellen und Mitosen vorhanden. Röntgenbehandlung versucht (Prof. C. Hansen), jedoch ohne Resultat.

Sektion: Leber sehr groß, weißlich punktiert. Mikroskopisch: Kapillaren mit Leukocyten strotzend gefüllt, Erythrocyten spärlich. Um die Gefäße herum dicke Infiltrate, die reichlich granulierte Zellen enthalten. In den größeren Gefäßen vorwiegend Leukocyten. Milz walnußgroß. Knochenmark nicht frisch untersucht. Mikroskopie ergibt das typische Bild: Kapillaren mit Leukocyten angefüllt.

Huhn Ste II (Pseudoleukämie).
Das Huhn ist mager und blaß, am 13. März 1906 gestorben.
Blut von normalem Aussehen.

$$\frac{L}{E} = \frac{8}{1444} = \frac{1}{180} \begin{cases} \text{Poly} & 70 \text{ Proz.} \\ \text{Lympho} & 9 \text{ „} \\ \text{Gr. Mono} & 21 \text{ „} \end{cases}$$

Sektion: Leber stark vergrößert, ca. 12 cm lang, an der Schnittfläche feine weiße Pünktchen. Mikroskopisch: Zwischen den Leberzellenbalken sieht man Reihen von Leukocyten, die anscheinend in den Kapillaren liegen. Gewöhnlich sind zwischen den Leukocyten keine Erythrocyten zu sehen. Andererseits sieht man Kapillaren, die bloß Erythrocyten enthalten; sie sind ziemlich regelmäßig verteilt und vereinzelt in jedem Gesichtsfelde sichtbar. Man bekommt den Eindruck, daß die Zirkulation durch diese Kapillaren geschieht. In den größeren Gefäßen wesentlich nur Erythrocyten. An mehreren Stellen sind Infiltrate vorhanden, obwohl nicht von der Mächtigkeit wie bei Huhn Ste I. Milz ca. walnußgroß. Knochenmark graurot. Schnitte besitzen wir leider nicht, dagegen Ausstrichpräparate, die denjenigen, die von leukämischem Mark herrühren, vollständig gleichen. Sehr zahlreiche große mononukleäre Leukocyten.

Es handelt sich also in dem ersten Falle um eine typische Leukämie, in dem zweiten um eine Pseudoleukämie. Wir meinen, daß ein einfaches Zusammentreffen zweier Krankheiten nicht vorliegt, daß es vielmehr dieselbe Krankheitsursache ist, welche die verschiedenen klinischen Bilder verursacht hat. Für die Richtigkeit dieser Anschauung möchten wir folgenden Versuch erwähnen:

Am 3. Sept. 1907 wurde ein Huhn dem Laboratorium eingesandt mit der Angabe, das Huhn sei eine Zeitlang blaß gewesen und nun plötzlich gestorben.

Huhn Tra I.

Sektion: Bei der Eröffnung des Unterleibs findet man ein großes Blutkoagel, das von einer Milzruptur herrührt. Milz enorm groß, mißt 6, 4,5, 4,5 cm. An der Schnittfläche mehrere thrombosierte Gefäße sowie eine große Blutung. Leber stark vergrößert. Rechter Lappen mißt 12,5 cm. An der Schnittfläche weiße Punkte und Striche. Mikroskopie: Kerne schlecht gefärbt, Bild nicht sehr deutlich. Ziemlich viele Leukocyten, die anscheinend in den Kapillaren liegen. Infiltrate mit granulierten Zellen sind vorhanden. Knochenmark graurot mit einzelnen weißen kleinen Knötchen. Mikroskopie: Bild typisch leukämisch. Gefäße mit Leukocyten angefüllt. Blutpräparat (Herzblut): Eine wirkliche Leukämie jedenfalls nicht vorhanden. Leukocyten sehr spärlich. Die Möglichkeit, daß geringe Veränderungen vorhanden gewesen sind, läßt sich natürlich nicht ausschließen.

Mit Knochenmark-, Leber-, Milzemulsion wurden zwei Hühner intravenös geimpft.

1) Huhn Ps I.

Am 4. Sept. 1907 geimpft.

18. Sept. 1907: Hb 42. Blutbild normal.

4. Okt. 1907: Hb 25. Blutpräparat ergiebt eine leichte Zunahme der Leukocyten. Polynukleäre spärlich, die großen Mononukleären überwiegend. Mitosen und große mononukleäre granulierten Zellen spärlich vorhanden. Erythrocyten oft degeneriert.

1. Okt. 1907 gestorben.

Sektion: Huhn mager. Organe blaß. Leber ganz von einer dünnen Fibrinhaut umgeben. Gewicht 75 g. Schnittfläche weißlich punktiert. Mikroskopie: Das Bild typisch leukämisch. Kapillaren erweitert und mit Leukocyten gefüllt. In den größeren Gefäßen ebenfalls zahlreiche Leukocyten. Milz: Gewicht 4,5 g. Knochenmark blaßrot. Mikroskopisch typisch leukämisches Bild.

Mit Organemulsion wurden zwei Hühner und zwei Kaninchen geimpft. Diese Tiere blieben gesund.

2) Huhn Ps II.

Am 4. Sept. 1907 geimpft. Blieb gesund.

Die Impfung mit pseudoleukämischen Organen hat also bei Huhn Ps I genau dieselben Veränderungen hervorgerufen, die wir von den Versuchen mit Leukämie kennen. Die Organveränderungen sind typisch. Das Blut zeigt das Bild der beginnenden Leukämie. Wir meinen, aus diesem Versuch den Schluß ziehen zu können, daß Leukämie und Pseudoleukämie der Hühner ätiologisch identisch sind.

Es gibt ein drittes Krankheitsbild, das in den Kreise der Leukämie gehört, nämlich eine multiple Sarkomatose des Peritoneums. Aufschlüsse hierüber verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Prof. C. Hansen an der tierärztlichen Hochschule. Die Krankheit kommt zuweilen epidemisch vor. Durch Abimpfung eines solchen Falles haben wir typische Leukämie hervorgerufen. Auch in der zweiten Generation war die Krankheit eine typische Leukämie. Die Einzelheiten dieses Versuches müssen späteren Veröffentlichungen vorbehalten werden.

Untersuchung auf Parasiten.

Was zunächst Bakterien betrifft, so haben wir niemals weder bei der spontanen noch bei der experimentellen Leukämie solche nachgewiesen. Untersucht wurden Schnitte von alkoholfixierten Stücken, sowie Aus-

strichpräparate. Kulturversuche wurden mehrmals gemacht, so in den Fällen No. 103 und 144. Wir impften auf Serumagar aërob und anaërob. Ferner auf erstarrtes Serum und Agar mit Zusatz von Hühnerhämoglobin. Die Kulturgläschen blieben immer steril.

Spirochäten ließen sich in Ausstrichpräparaten nicht nachweisen. Kleine protozoenähnliche Gebilde sind oft in den Schnitten zu sehen. Sie sind vorher schon von Yutaka Kon, der einen Fall von vermeintlicher Leukämie (oder Pseudoleukämie?) beschreibt, gesehen worden. In der Leber liegen sie in kleinen Höhlen innerhalb der Leberzellen. Ueber die Natur dieser Körperchen läßt sich wohl schwer etwas Bestimmtes sagen. Zuweilen hat man den Eindruck, als seien es geschrumpfte Zellen. Auch im Knochenmark begegnet man hie und da Gruppen von kleinen runden Körperchen, die ebenfalls an Parasiten erinnern könnten. Wir wollen uns jedoch jeder Beurteilung ihrer Natur enthalten.

Die Frage der Aetiologie.

So viel geht aus den Versuchen mit Sicherheit hervor, daß es nicht ein unorganisiertes Gift sein kann, das die Krankheit hervorruft. Eine Ueberführung durch mehrere Generationen wäre in diesem Falle kaum denkbar. Es könnte aber sein, daß Zellen ebenso wie bei den Krebsimpfungen überführt wurden und nun im neuen Organismus weiterwucherten. Wir haben deshalb versucht, ob die Krankheit auch ohne Ueberführung von Zellen übertragbar wäre. Wir wollen hier — natürlich mit einer gewissen Reserve — die Resultate in aller Kürze mitteilen:

Im ersten Versuch wurde die sehr virulente Emulsion vom Huhn 233 (100 Proz. Anschlag) zentrifugiert, darauf durch zwei Schichten Filtrierpapier filtriert. Das klare Filtrat wurde 3 Hühnern eingespritzt, von denen eins leukämisch wurde. Dieser Versuch ist nun nicht einwandfrei, da das Filtrat wohl nicht ganz zellfrei war. Andererseits muß betont werden, daß ein ähnlicher Versuch bei den Krebsimpfungen niemals gelungen ist. Das Resultat war jedenfalls sehr ermunternd.

Beim zweiten Versuch haben wir die Organemulsion zentrifugiert. Die Flüssigkeit war etwas trübe, enthielt zahlreiche Körnchen, aber keine Zellen. Sie wurde nun durch eine Kerze aus Infusorienerde filtriert. Das ganz klare Filtrat wurde 5 Hühnern eingespritzt. Von diesen Tieren haben 2 typische Leukämie bekommen.

Aus diesen Versuchen scheint hervorzugehen, daß die zellfreien Filtrate wirksam sind. Es handelt sich also nicht wie beim Krebs um Transplantation von Zellen. Es muß vielmehr ein organisiertes Virus sein, daß die Krankheit hervorruft. Die Größe des Erregers läßt sich erst nach Versuchen mit dichteren Kerzen beurteilen.

Schließlich möchten wir ein paar Bemerkungen betreffend die Nomenklatur machen. Das Wort Leukämie wurde eingeführt von Virchow, der mit diesem Namen eine Reihe von Krankheitsfällen abgrenzte, welche an der eigentümlichen Blutveränderung kenntlich waren. Es wird nun immer deutlicher, daß die Leukämie eigentlich nur ein Symptom ist, und daß es Fälle von Leukämie ohne Leukämie gibt, was ja eine logische Unmöglichkeit ist. Es ist deshalb an der Zeit, eine Benennung zu finden, die sowohl die leukämischen wie die aleukämischen Fälle umfaßt. Als solche ist von Warthin das Wort „Leukoblastoma“ in Vorschlag gebracht worden. Dieses Wort finden wir nun nicht

praktisch und auch nicht ganz korrekt, da es eigentlich die einzelnen Infiltrate eher als die ganze Krankheit bezeichnet. Wir möchten ein anderes Wort vorschlagen, nämlich: „Leukosis". Das Wort ist bezeichnend und leicht brauchbar. Durch Hinzufügen des Adjektivs „leukaemica" resp. „aleukaemica" könnte der Prozeß genauer definiert werden. Man könnte Myelocytenleukosen von Lymphocytenleukosen unterscheiden u. s. w. Das Wort „Leukämie" sollte der leukämischen Blutveränderung vorbehalten werden.

Vorliegende Arbeit ist hauptsächlich im bakteriologischen Laboratorium der kgl. tierärztlichen Hochschule ausgeführt. Dem Direktor des Laboratoriums, Herrn Prof. B. Bang, der uns Arbeitsplatz und reichliches Tiermaterial zur Verfügung gestellt, sei es uns hiermit gestattet, unseren besten Dank zu sagen. Die histologischen Untersuchungen und Zählungen von Blutpräparaten sind teilweise im Laboratorium des kgl. Frederiks-Hospital Abt. A gemacht worden. Für freundliches Entgegenkommen sind wir Herrn Prof. Chr. Gram dankbar verpflichtet.

Kopenhagen, 30. Januar 1908.

Literatur.

Butterfield, Aleukämic lymphadenoid tumors of the hen. (Folia haematologica. 1905. No. 10.)

Ellermann und Bang, Experimentelle Leukämie bei Hühnern. [Vorl. Mitteilung.] (Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVI. 1908.)

Yutaka Kon, Ueber Leukämie beim Huhn. (Virchows Archiv. 1907.)

Moore, Infectious leukaemia in fowls. (Annual Reports of the Bureau of Industry. Vol. XII—XIII. 1895—96.)

Warthin, The neoplasm theory of leukaemia. (Transact. of the Assoc. of American Physicians. 1904.)

Untersuchungen über Epithelioma contagiosum der Vögel.

[Aus dem Institut Pasteur in Paris, Laboratorium des Herrn Dr. Borrel.]

Von Dr. **B. Lipschütz** aus Wien.

Mit 1 Tafel.

Die Erforschung der Aetiologie des Epithelioma contagiosum der Vögel hat seit mehreren Dezennien Pathologen und Dermatologen in hohem Maße beschäftigt; hoffte man doch, beim Studium dieser Affektion Anhaltspunkte für die Aetiologie des Molluscum contagiosum des Menschen sowie für die Erforschung der krebsartigen Geschwülste zu gewinnen. Intensive, auf viele Jahre zurückreichende Arbeit hatte jedoch keinen wesentlichen Fortschritt in der Erkenntnis der Aetiologie der Vogelpocke gebracht und erst der Borrelsche Befund war imstande, neue Wege der Forschung zu eröffnen.

Dank dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Dr. Borrel war es mir möglich, durch mehrere Monate im Institut Pasteur mich

mit dem Studium der Vogelpocke zu beschäftigen und möchte ich an dieser Stelle darüber einiges berichten.

Mikroskopische Untersuchungen.

Nachdem eine große Anzahl von „Parasiten“ oder darauf verdächtiger Gebilde von Bollinger, Sanfelice, Bosc u. A. beschrieben worden waren, Angaben, von welchen keine einzige einer ernsten Kritik standzuhalten vermochte, teilte Borrel im Dezember 1904 einen für das Epithelioma contagiosum der Vögel typischen mikroskopischen Befund mit. Obwohl von großer Bedeutung für die Erforschung einer ganzen Reihe von zueinander in engen Beziehungen stehenden Krankheiten, blieben die Borrelschen Angaben gänzlich unbekannt, und dies mag wohl die Tatsache erklären, daß Reischauer in einer 1906 erschienenen Arbeit die Borrelschen Körperchen nicht erwähnt, sondern eine derartige kaum glaubliche Morphologie seines Parasiten mitteilt, daß schon dadurch allein die Deutung seiner Befunde Mißtrauen erwecken mußte. Ebenso scheint die Borrelsche Arbeit auch Löwenthal unbekannt gewesen zu sein, da er bei seinen mikroskopischen Untersuchungen derselben nicht erwähnt.

Kurze Zeit nach der Arbeit Reischauers erschienen die unter Borrels Leitung ausgeführten Untersuchungen Burnets, die unsere Kenntnisse vom Wesen des Epithelioma contagiosum der Vögel in bedeutendem Maße bereicherten; wir werden daher im Laufe dieser Arbeit des öfteren auf die Untersuchungen Burnets zurückkommen müssen.

Unsere Untersuchungen wurden mit einem von Herrn Borrel freundlichst überlassenen Virus, das schon zu früheren Versuchen im Institut gedient hatte, ausgeführt und beziehen sich alle in vorliegender Arbeit gemachten Angaben ausschließlich auf das experimentelle Epithelioma contagiosum der Vögel, da wir keine Gelegenheit hatten, die natürliche Infektion dieser Tiere zu studieren.

Bevor über die mikroskopischen Untersuchungen berichtet wird, sei einiges über die technische Seite behufs Gewinnen geeigneten Untersuchungsmaterials mitgeteilt, da es, wie wir uns wiederholt überzeugen konnten, notwendig ist, darauf zu achten, falls man regelmäßig zu positiven Resultaten gelangen will.

Zur Impfung der Tiere (Tauben und Hühner) wurde stets das in Form von Krusten oder kleinen Hautstückchen aufbewahrte Virus mit etwas sterilem Wasser in der Reibschale verrieben und, nach Ausrupfen der Federn auf beiden Teilen des Thorax, mit dem Platinspatel eingerieben. Das Virus wurde stets trocken aufbewahrt und haftete bei sämtlichen Tauben, zeigte jedoch bei kutaner Impfung nicht stets denselben klinischen Verlauf. Denn während die überwiegende Mehrzahl unserer Versuchstiere, nachdem sie das pathologische Bild in typischer Weise gezeigt hatten, unter Bildung von Krusten meist in 3 Wochen abheilten und noch eine ganze Reihe von Monaten beobachtet werden konnten, gingen mehrere Tauben im Laufe der ersten 12 bis 15 Tage unter sehr starker Abmagerung ein, wobei die Sektion nichts Besonderes, auch nicht im Rachenorgan, ergab.

Bei gut gelungener Haftung des Virus ist die gesamte, zur Impfung benutzte Hautfläche affiziert und bietet ein schönes Bild dar, indem die geschwollenen Follikel sich reihenweise anordnen und eine reibeisenähnliche Oberfläche erzeugen. Spaltet man mit dem Messer die oberflächliche,

an der Spitze des geschwellten Follikels befindliche dünne Epidermischicht, so gelingt es sehr oft — am besten allerdings nicht vor dem 5. oder 6. Tag — durch seitliches Drücken auf den geschwellten Follikel, weißliche Pfröpfe, die den Follikularbälgen entsprechen, herauszubefördern. Diese geben ein sehr reines Material zur mikroskopischen Untersuchung ab, während es oft passiert, neben dem typischen Befund auch zahlreichen anderen Mikroorganismen zu begegnen, falls die Präparate direkt mit der Schnittfläche der Haut angefertigt werden. Natürlich enthalten auch die bei der Abheilung der Vogelpocke auftretenden Krusten reichlich Virus; der mikroskopische Nachweis in denselben ist dann viel schwieriger, was bei der Kleinheit der Körperchen und der für Anfänger immerhin bestehenden Möglichkeit ihrer Verwechslung mit Detritus etc. nicht wunder nehmen darf.

Beim Huhn führte die Impfung mit dem Taubenvirus ebenfalls zur starken Anschwellung der Follikel auf den Seitenteilen des Brustkorbes, wobei ferner die gesamte geimpfte Hautpartie stark angeschwollen war, prall ödematös und heiß sich anfühlte. Diese eigentümliche Reaktion des Gewebes beruht offenbar auf anatomischen Verhältnissen, die beim Huhn vorhanden sind, bei der Taube hingegen fehlen; bei letzterer liegt die Haut stramm der Muskulatur an, der Panniculus adiposus ist wenig ausgebildet, bei ersterem ist das subkutane lockere Bindegewebe stärker entwickelt.

Zur mikroskopischen Untersuchung fertigten wir einerseits Tupfpräparate an, andererseits bedienten wir uns der mit einigen Tropfen destillierten Wassers hergestellten Emulsion des Virus, um dünnste Deckglasausstriche zu gewinnen. Beide Methoden haben gewisse Vorteile; erstere gibt wohl ein richtigeres Bild von der außerordentlichen Menge des Virus, sowie von seinem Verhalten zu den Gewebszellen wieder, während letztere zum Studium von Details, sowie zur Anfertigung nativer Präparate mit Vorteil angewendet werden kann.

Bei der außerordentlichen Kleinheit des Borrelschen Virus ist die native Untersuchung mit den gewöhnlichen Vorrichtungen des Mikroskopes ausgeschlossen; aber auch die Untersuchung mit Dunkelfeldbeleuchtung, die ich mehrere Male anwendete, kann bei Unkenntnis des gefärbten mikroskopischen Präparates zu Täuschungen Anlaß geben. Bei einiger Aufmerksamkeit und Uebung gelingt es jedoch unschwer, die in sehr großer Zahl vorhandenen, teils einzeln, teils in Diploform oder kleinen Häufchen gelegenen Körperchen im ganzen Gesichtsfeld zu sehen; sie erscheinen gleichgroß, grauweiß, von regelmäßiger rundlicher Gestalt, unbeweglich und sind daher auf Grund dieser Merkmale leicht von etwa vorhandenem glitzernden und tänzelnden Detritus etc. auseinanderzuhalten. Andere scharf hervortretende Gebilde konnte ich nebst den Körperchen nicht auffinden.

Die native Untersuchung, auch in der von mir ausgeführten Weise, das heißt mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung, scheint keine diagnostische Bedeutung beanspruchen zu dürfen; indessen erschien es mir von grundsätzlicher Wichtigkeit, dieselbe auszuführen.

Zur Untersuchung im gefärbten Präparat verwendeten wir in Alkohol Aether āā durch 10 Minuten fixierte Deckglasausstriche, außerdem Tupfpräparate nach Borrel. Borrel konnte die kleinen Körperchen ausschließlich mit der Beizmethode Löfflers färben; mir ist auch deren Darstellung mit der Giemsa-Lösung gelungen. Endlich gelingt auch die Färbung mit gewöhnlichem Karbolfuchsin, jedoch ist diese

Methode, wie noch weiter unten angeführt werden wird, wenig empfehlenswert.

Nachdem der von Borrel in aller Kürze mitgeteilte Befund noch wenig studiert und bekannt ist, glaube ich, auf eine nähere Beschreibung auf Grund eigener Untersuchungen eingehen zu dürfen, und dies um so mehr, als auch bei anderen Affektionen, deren wir in unserer Arbeit werden erwähnen müssen, morphologisch ähnliche Befunde gemacht werden konnten, und es daher geboten erscheint, dieselben vergleichend zu untersuchen.

In Präparaten, die nach Löffler gefärbt wurden, ließ sich bei Untersuchung mit Immersion und Okular 4 folgendes Bild feststellen: außerordentlich zahlreiche, punktförmig erscheinende, lebhaft leuchtend rote, rundliche, fast gleichgroße Körperchen. Faßt man die auf vollkommen hellem, kaum oder gar nicht gefärbtem Untergrund liegenden Gebilde ins Auge, so kann man bei Verwendung stärkerer Okulare (8 und 12) einige Typen herausfinden, die offenbar als „Teilungsformen" gedeutet werden müssen. Den ersten Typus präsentiert die „Kugelform", und ist diese in überwiegender Mehrzahl in sämtlichen Präparaten in Haufen nebeneinander liegend enthalten. Den zweiten Typus stellt die „Doppelpunktform" dar; beide Körperchen liegen dicht nebeneinander und zeigen noch die rundliche Gestalt. In sehr gut gebeizten Präparaten kann es dabei vorkommen, daß man an Stelle der 2 Körperchen einen kurzen plumpen Bacillus vor sich zu haben meint; die genauere Untersuchung wird jedoch stets Aufklärung verschaffen. Durch Auseinanderweichen der Körperchen entsteht offenbar der seltener zu sehende 3. Typus, die „Biscuitform": beide Körperchen sind leicht ausgezogen, mit gegeneinander gerichteten verjüngten Enden. Aus der „Biscuitform" dürfte die 1. Form wieder abzuleiten sein. Endlich sind hie und da auch kurze Ketten, aus je 3—4 Individuen bestehend, zu sehen.

Untersucht man auf vollkommen hellem Grund liegende, schön gefärbte Körperchen, so lassen sich weder Geißel noch Membran oder Kapsel nachweisen, ebensowenig läßt sich in Giemsa-Präparaten irgend ein weiteres Detail im Bau der kleinen Körperchen feststellen. Hingegen gewinnt man bei Untersuchung von dicht nebeneinander oder in Haufen liegenden Körperchen und bei Verwendung von Löffler-Präparaten den Eindruck eines ein jedes Körperchen umgebenden zarten Hofes (oder Kapsel?); vielleicht ist dieser der Ausdruck einer die Körperchen einhüllenden, fettartigen Substanz (Borrel), die dann auch das in kompakten Häufchen auftretende Vorkommen der kleinen Elemente besser erklären würde.

Zur Giemsafärbung benutzten wir die Stammlösung, in der Verdünnung von 1 Tropfen derselben auf 1 ccm destillierten Wassers, und färbten 2 Stunden bei Zimmertemperatur, worauf wir $1/2$ Minute mit 20-proz. Tanninlösung differenzierten. Die Körperchen nehmen eine schöne rotviolette Farbe an, treten wegen mangelnder Beizung schärfer umschrieben als in Löffler-Präparaten hervor, einzeln oder in Häufchen nebeneinander liegend. Das Vorkommen von „Teilungsformen" ließ sich auch in Giemsa-Präparaten unschwer nachweisen.

Bei der Färbung mit Karbolfuchsin erscheinen die Elemente ungemein schwach gefärbt, und sind viel kleiner als in gebeizten Präparaten.

Bezüglich der Größe dieser Körperchen bestehen deutliche Differenzen, je nach der Färbung. Im Vergleich mit den von mir genau gemessenen Körperchen des Molluscum contagiosum des Menschen er-

scheinen die Borrelschen Körperchen etwas kleiner, unter $^1/_4$ μ groß in Giemsa-Präparaten, während in nach Löffler gebeizten Präparaten kaum ein deutlicher Unterschied nachweisbar ist. Die Berücksichtigung dieser Größenverhältnisse ist namentlich für die Beurteilung von Filtrationsversuchen (Marx und Sticker) nicht ganz ohne Bedeutung.

Von größtem Interesse ist das topographische Verhalten des geschilderten Virus zum Gewebe und zu denjenigen Gebilden, die in den histologischen Arbeiten über Epithelioma contagiosum der Vögel eine große Rolle gespielt haben und als „Einschlüsse" bezeichnet werden. Nachdem durch das Vorkommen von „Einschlüssen" eine große Reihe menschlicher und tierischer Krankheiten gekennzeichnet ist, scheint ein genaueres Eingehen auf die oben erwähnten Momente von Interesse, denn durch die Resultate der Untersuchungen von Borrel, Burnet, mir, Halberstädter und von Provazek ist bereits der erste Schritt in der Klärung dieser bisher ätiologisch so geheimnisvollen Affektionen getan und dadurch vielleicht ein Ansporn zur weiteren Erforschung derselben gegeben worden.

Das Verlassen rein histologischer Methoden und die Anwendung bakteriologischer Regeln hat in dieser Hinsicht eine Wendung zum Besseren gebracht! Wie dies heute wohl von den meisten deutschen und französischen Autoren angenommen wird, stellen die beim Molluscum contagiosum des Menschen, beim Epithelioma contagiosum der Vögel, bei der Lyssa, Hühnerpest etc. auftretenden „Einschlüsse" spezifische Reaktionsprodukte des Gewebes auf das Eindringen eines spezifischen Virus dar und zwar sind sie teilweise auf Degeneration des Protoplasmas, teilweise auf Veränderungen des Kernes zurückzuführen. Bei den verschiedenen hierher gehörigen Krankheiten zeigen diese Einschlüsse ziemlich weitgehende Unterschiede, die sich nicht nur auf Zahl, Form und Größe, sondern was vielleicht ebenso wichtig sein dürfte, auch auf ungleiche Verteilung im Gewebe, ungleiches Verhalten zu Farbstoffen und auf die Möglichkeit der Darstellung einer inneren Struktur bei einzelnen derselben beziehen.

Am einfachsten liegen die Verhältnisse beim Molluscum contagiosum des Menschen. Die hier auftretenden eigentümlichen Zellveränderungen, die man schlechtweg als „Molluscumkörperchen" bezeichnet hat, haben von verschiedenen Autoren eine sehr mannigfache Deutung erfahren. Von den einen als Gregarine gedeutet (Bollinger, Neisser), glaubte die Mehrzahl der Untersucher dieselben nur als eigentümliche Degeneration des Protoplasmas oder auch des Kernes auffassen zu müssen. Wenn nun auch das Auftreten einer körnigen, morphologisch ungleichen Masse auch schon in den tiefer gelegenen Zellschichten mit Hilfe histologischer Methoden nachweisbar ist, so knüpft sich doch das allgemeine Interesse an das Vorhandensein größerer, ovaler, glänzender, lichtbrechender und in der Regel homogen erscheinender Körperchen, der oben erwähnten „Molluscumkörperchen". Diese lassen sich sowohl im Schnitt, hier jedoch nur in den oberen zwei Dritteln der Molluscumläppchen, als auch in dem nach gewöhnlichen Färbungsmethoden hergestellten Ausstrich des ausgedrückten Molluscuminhaltes und schließlich selbst bei nativer Untersuchung nachweisen.

Um nun die näheren Beziehungen der kleinen korpuskulären Elemente, die von mir in einer früheren Arbeit genau beschrieben worden sind, zu den sogenannten „Molluscumkörperchen" festzustellen, habe ich das Studium von Tupfpräparaten, in welchen, unter einiger Vorsicht ausgeführt,

der Situs der Elemente durchaus gewahrt wird, benützt. Man geht in der Weise vor, daß man nach Spaltung der das Molluscum bedeckenden Epidermis, ersteres aus seiner bindegewebigen Kapsel vorsichtig heraushebt und durch einen vertikal geführten Schnitt halbiert. Durch Andrücken der Schnittfläche auf Objektträger erzielt man, nach Fixierung in Alkoholäther ää und Färbung nach Löffler sehr instruktive Bilder (Fig. 1). Die „Molluscumkörperchen" erscheinen tief dunkelrot, homogen, von rundlicher oder ovoider Gestalt und sind von einer außerordentlich großen Menge der typischen, kleinen korpuskulären Elemente, die die ersteren gewissermaßen umschwärmen, umgeben. Nirgends lassen sich nähere Beziehungen der kleinen Körperchen zu den „Einschlüssen" oder irgend welche Kennzeichen, die auf ein Ausschlüpfen der kleinen Elemente aus den großen ovoiden Gebilden deuten würden etc., feststellen. Nun ist es jedoch von Interesse, nachzuweisen, daß, während die kleinen Körperchen sich im ganzen Tupfpräparat befinden, also offenbar den ganzen Tumor durchsetzen, die großen „Molluscumkörperchen" — ähnlich wie im histologischem Bild — nur im obersten Teil des Präparates sich vorfinden. Es liegt also hier ein Befund vor, dem wir ebenso deutlich bei der Lyssa begegnen, indem nämlich die spezifischen „Einschlüsse" sich mit größter Regelmäßigkeit in ihrer typisch ausgeprägten Form auf einzelne, scharf umschriebene Anteile des befallenen Gewebes beschränken, obwohl das Virus, wie daran gar nicht gezweifelt werden kann, das pathologische Gewebe nach allen Richtungen hin vollkommen durchsetzt.

Waren wir beim Molluscum contagiosum des Menschen in der Lage, auf einen typischen, mikroskopischen Befund zu verweisen, so müssen wir uns bei der Lyssa zum Teil mit theoretischen Vorstellungen behelfen. Gehen wir von der uns hier allein interessierenden Frage aus, nämlich von den Beziehungen des noch nicht mikroskopisch erforschten Lyssavirus zu den Negrischen Körperchen, so unterliegt es wohl keinem Zweifel und stellt sie die auf experimenteller Grundlage gestützte Ansicht der meisten Autoren dar, daß das Virus in allen Teilen des Zentralnervensystems in größter Menge vorhanden ist und daß es sowohl aus diesem Grunde als auch wegen seiner Filtrationsfähigkeit (der wir geringere Bedeutung beimessen) durchaus nicht mit den in verhältnismäßig geringer Zahl und nur in einzelnen Abschnitten des Gehirns und äußerst selten im infektiösen Rückenmark vorkommenden Negrischen Körperchen identifiziert werden darf. Diese spezifischen Degenerationsprodukte der Lyssa unterscheiden sich jedoch von den „Molluscumkörperchen" vor allem durch das Vorhandensein einer inneren Struktur und das Auftreten kleinerer Körperchen („Zentralkörper") innerhalb derselben, die von Volpino als Virus gedeutet wurden. Es würde also nach diesem Autor das spezifische Virus innerhalb der „Einschlüsse" sich befinden, eine Auffassung, die a priori nicht unwahrscheinlich erscheinen würde. Das so seltene Vorkommen der Volpinoschen Körperchen spricht jedoch nicht für ihre Natur als Virus, so daß man wohl mit Recht auch diese als spezifische Reaktionsprodukte des Gewebes auf das Eindringen eines spezifischen Virus auffassen darf.

Der Lyssa ähnlich scheinen uns die Verhältnisse bei der Hühnerpest zu liegen. Wenn auch hier das Virus in seiner mikroskopischen Form uns nicht bekannt ist, haben wir in eigenen Versuchen, die wir von 4 Jahren gemeinschaftlich mit Herrn Professor Kraus in Wien ausgeführt haben, die hohe Infektiosität des Blutes und fast sämtlicher Organe kennen gelernt; die von Kleine und Schiffmann ge-

fundenen „Einschlüsse“ sind jedoch in verhältnismäßig geringer Zahl und nur im Gehirn bisher nachgewiesen worden, in welchem sie eine gewisse Aehnlichkeit mit den Negrischen Körperchen aufweisen. Das auffallende Mißverhältnis zwischen dem in größter Menge im ganzen pathologischen Substrat oder selbst in fast sämtlichen Organen befindlichem Virus und dem Auftreten typischer Einschlüsse in geringer Zahl und auf streng begrenzte Gebiete kennzeichnet also neben Molluscum contagiosum und Lyssa auch die Hühnerpest.

Waren wir bei den letzterwähnten zwei Infektionskrankheiten gezwungen, auf das noch nicht erforschte Virus derselben zu verweisen, so besitzen wir beim Trachom einen vor wenigen Monaten von Halberstädter und v. Prowazek mitgeteilten typischen mikroskopischen Befund, der für die vorliegende Arbeit noch in einer anderen Beziehung, die wir weiter unten erörtern werden, von Bedeutung ist. Hier wollen wir uns nur mit den Beziehungen der von beiden Autoren als Virus bezeichneten kleinen Körperchen zu den ebenfalls von ihnen beschriebenen „Einschlüssen“ befassen. Es treten innerhalb der den Kernen der Epithelzellen aufsitzenden, in Giemsa-Präparaten blau gefärbten „Einschlüsse“ rot gefärbte, sehr feine Körnchen auf, die sich schnell vermehrend und sich vergrößernd in zwei doppelpunktartige Körnchen zerfallen. Außerdem knnn man in den Ausstrichpräparaten auch feine Körnchen neben den Zellen beobachten. Obwohl diese Untersuchungen von großem Interesse sind, so werden doch noch weitere Forschungen festzustellen haben, ob das Vorhandensein des Virus beim Trachom stets und ausschließlich in den „Einschlüssen“ auftritt, oder ob hier nicht ähnliche Verhältnisse, wie bei den bisher besprochenen Infektionskrankheiten — Molluscum contagiosum des Menschen, Lyssa, Hühnerpest — vorliegen, das heißt Auftreten von Virus in Zellen und Gewebsschichten, in welchen keine Einschlüsse enthalten sind.

Nach der im Interesse einer besseren Verständigung etwas ausführlichen Darstellung der hier interessierenden Momente, kehren wir zum Epithelioma contagiosum der Vögel zurück.

Bei dieser Affektion wurden — wenn wir von älteren Autoren absehen — namentlich von Benda, Apolant, Reischauer und Burnet, verschiedene Formen intracellulärer „Einschlüsse“ beschrieben. Burnet hatte jedoch auch das Studium von Tupfpräparaten nach Borrel herangezogen und bei Verwendung der Löfflerschen Beize einerseits und der Giemsa-Lösung andererseits Differenzen gefunden; denn während der Kern sich stets färbt; gelang die Darstellung der Borrelschen Körperchen nur nach Löffler, der den „Einschlüssen“ entsprechenden „corps chromatiques extranucléaires“ nur nach Giesma. Bei Verwendung von Tupfpräparaten bin ich zwar nicht viel glücklicher gewesen, benützt man jedoch dünnste, nach Giesma gefärbte Ausstriche einer Virusemulsion, so gelingt es oft noch, einzelne intakte Zellen aufzufinden, in denen neben dem Kern die Borrelschen Körperchen sehr deutlich durch ihre rotviolette Farbe, gleiche Größe, Anwesenheit von Diploformen und Bildung kleiner Häufchen hervortreten. In histologischen Präparaten jedoch sind die Borrelschen Körperchen gar nicht nachweisbar, wohl aber eine Reihe von Einschlüssen, deren Form, Größe sowie Verhalten zum Kern oder Protoplasma, wie dies aus den Untersuchungen Bendas, Apolants und Burnets hervorgeht, gewisse Unterschiede, die zweifellos auf die Art der angewendeten

Fixierung und Färbung zurückgeführt werden dürfen, aufweisen. Nach Burnet sind es im Protoplasma der Zellen gelegene kompakte Einschlüsse, die den Kern verdrängen und in deren Innern wahrscheinlich ein Teil des von der Zelle beherbergten Virus eingeschlossen sein dürfte. Nachdem, wie man sich durch Tupfpräparate überzeugen kann, die Borrelschen Körperchen sich fast im ganzen pathologischen Substrat der Haut, die großen Einschlüsse hingegen nur in verhältnismäßig wenigen Zellen der gewucherten Epithelzapfen sich befinden, kommen wir hier zu ähnlichen Schlußfolgerungen, wie bei den vorher abgehandelten Krankheiten.

Wenn wir das hier Besprochene zusammenfassen, so läßt sich folgendes behaupten: 1) Das Virus dringt beim Molluscum contagiosum des Menschen, Trachom, Epithelioma contagiosum der Vögel, wahrscheinlich auch bei Lyssa und Hühnerpest (von zahlreichen anderen hierher gehörigen Affektionen sehen wir vorläufig ab) in das Protoplasma von Zellen bestimmter Gewebe ein; 2) durch den Reiz der intracellulären Parasiten werden degenerative Veränderungen von Seiten des Protoplasmas oder des Kernes oder beider ausgelöst, die das Auftreten der „Einschlüsse“ zur Folge haben; 3) während für Lyssa und Hühnerpest das Virus noch nicht morphologisch bekannt ist, erblicken wir in den von Borrel, mir, Halberstädter und v. Prowazek beschriebenen kleinsten Elementen den Träger des Virus des Epithelioma contagiosum der Vögel, des Molluscum contagiosum des Menschen und des Trachoms, für welche Auffassung die ungeheure Menge der kleinen Körperchen, die gleiche Größe, das typische Verhalten zu Farbstoffen, das Vorhandensein von als „Teilungsformen“ zu deutenden Gebilden, ihr Nachweis im nativen Präparat, sowie der Mangel irgend eines anderen Befundes und endlich das absolut konstante Vorkommen (über kulturellen Nachweis derselben siehe weiter unten) angeführt werden können; 4) die intracellulären Virusarten durchsetzen das gesamte pathologische Gewebe, die „Einschlüsse“ bleiben auf einzelne Zellen oder umschriebene Gebiete beschränkt.

Anhangsweise seien noch kurz einige in färberischer Hinsicht zwischen den Körperchen des Molluscum contagiosum des Menschen, Epithelioma contagiosum der Vögel und Trachom bestehende Differenzen erwähnt. Nach Halberstädter und v. Prowazek färben sich die kleinen Körperchen ausgezeichnet nach Giesma, während die Färbung nach Löffler meist versagt. Das Virus des Molluscum contagiosum und des Epithelioma contagiosum der Vögel besitzt eine besondere Affinität zur Löfflerschen Färbung, beide färben sich auch nach Giesma, jedoch gelingt dies viel leichter beim Molluscum contagiosum des Menschen. Bezüglich der Form und Größe besteht sehr weitgehende Uebereinstimmung.

Ueber den Einfluß einiger Substanzen auf das Virus der Vogelpocke.

Schon älteren Autoren (Bollinger u. A.) war die besondere Widerstandsfähigkeit des Virus des Epithelioma contagiosum der Vögel bekannt; den Einfluß physikalischer und chemischer Faktoren haben Marx und Sticker, Reischauer, Löwenthal und Burnet in zahlreichen

ausgedehnten Versuchen studiert und ebenfalls auf eine außerordentliche Resistenz des Virus geschlossen.

Nach Kenntnisnahme der von den genannten Autoren ermittelten Tatsachen hat es uns von einigem Interesse geschienen, auch den Einfluß einiger Substanzen, die in ähnlichen Arbeiten der letzten Zeit einen ziemlich breiten Raum eingenommen und sich als Zellgifte erwiesen haben, auf das Virus des Epithelioma contagiosum zu studieren. Von dem Ausfall derartiger Versuche wurden sogar von manchen Autoren Schlüsse auf die Bakterien- oder Protozoennatur des betreffenden Virus gezogen. Nach v. Prowazek löst 5 Proz. taurocholsaures Natrium das Protoplasma der Protozoen: Flagellaten, Spirochäten, im Gegensatz zu den Bakterien und Pilzen, mit Ausnahme der Pneumokokken. Auch stellte dieser Autor fest, daß das Vaccinevirus nach $^1/_4$-stündiger Einwirkung einer 10-proz. Lösung von taurocholsaurem Natrium nicht vollkommen abgetötet wird, was mit 6-stündiger Einwirkung von Galle gelingt.

Russ glaubt aus seinen mit Landsteiner ausgeführten Versuchen mit großer Wahrscheinlichkeit den Schluß ziehen zu dürfen, daß es sich bei der Hühnerpest um Erreger tierischer Natur handle, weil ihm die Abtötung des Virus mit 1-proz. Saponinlösung gelang.

Unsere eigenen Versuche wurden mit Saponin, taurocholsaurem Natrium und Atoxyl ausgeführt. Wir gingen in der Weise vor, daß wir gleiche Mengen — meist 1—2 ccm — einer mäßig verdünnten Emulsion des Virus in destilliertem Wasser mit gleichen Mengen der erwähnten Substanzen in engen Glasröhrchen zusammenbrachten, wiederholt tüchtig durchschüttelten und nach verschieden langer Zeit die gesamte Flüssigkeitsmenge zur subkutanen Impfung verwendeten. Es ist uns dabei nicht gelungen, auch nur mit einem der genannten Zellgifte regelmäßig eine komplette Abtötung des Virus zu erzielen; es ergaben sich jedoch immerhin Differenzen, so daß es mir von Wert erscheint, mit einigen Worten darauf einzugehen. Als Kontrolle diente die Aufschwemmung in destilliertem Wasser, das keinerlei Einfluß auf das Virus ausübt.

1) Versuche mit Atoxyl. Verwendet wurde eine von Herrn Dr. Salmon uns überlassene 10-proz. Lösung. 2-stündige Einwirkung bei Zimmertemperatur. Die geimpften Tauben zeigen genau dasselbe Bild wie das Kontrolltier.

2) Versuche mit 1-proz. Saponinlösung. Nach 1-stündiger Einwirkung läßt das Impfexperiment keinerlei Beeinflussung des Virus feststellen. Nach 24-stündiger Einwirkung scheint zwar ein Teil des Virus geschädigt worden zu sein, es finden sich jedoch einzelne typische Knötchen bei den geimpften Tauben.

3) Versuche mit taurocholsaurem Natrium. Zur Verwendung kam eine 10-proz. Lösung. Die erzielten Resultate waren verschieden, je nachdem eine sehr verdünnte oder eine mehr getrübte Emulsion des Virus benutzt wurde. Im ersten Falle ist es uns ein einziges Mal gelungen, nach 2-stündiger Einwirkung eine komplette Abtötung des Virus zu erhalten; wir überzeugten uns davon, durch die nach 3 Wochen vorgenommene Reinokulation des Versuchstieres, die ein positives Resultat ergab. Im zweiten Falle konnte einige Male eine Schädigung, jedoch nie eine wirkliche Abtötung des Virus festgestellt werden. Ebensowenig ist es zu einer Klärung der Emulsion gekommen.

Wenn also aus unseren Versuchen auf eine gewisse Beeinflussung

des Virus des Epithelioma contagiosum der Taube durch Saponin und taurocholsaures Natrium geschlossen werden darf, so zeigen sie jedoch auch, daß quantitative Unterschiede in weiteren auf ähnliche Virusarten Bezug nehmenden Versuchen werden genauer berücksichtigt werden müssen. Wir glauben auch nicht aus dem Ausfall der Versuche berechtigt zu sein für die Bakterien- oder Protozoennatur des Virus einzutreten; die Resultate der mikroskopischen Untersuchung, die außerordentliche Resistenz des Virus und vielleicht auch die eben erwähnten Versuche scheinen allerdings nicht sehr zugunsten der Protozoentheorie des Virus zu sprechen.

Kulturversuche,

die wir wiederholt auf Blutagar und im Kollodiumsäckchen (im Kaninchenperitoneum) vorgenommen haben, haben uns bisher keine Resultate ergeben. Es war daher für uns von Interesse, im Laufe unserer Untersuchungen zwei eben erschienene Arbeiten kennen zu lernen, die einige Beziehungen zu unseren Versuchen aufweisen. Bordet gelang es, auf seinem für die Züchtung des Bacillus des Keuchhustens verwendeten Blutagar und indem das Virus der Geflügeldiphtherie als Ausgangspunkt diente, eine unsichtbar wachsende Kultur kleinster, nach Giemsa färbbarer Körperchen zu gewinnen und in mehreren Generationen fortzuzüchten.

Durch die Arbeit Carnwarths wurde andererseits die schon von älteren Autoren stets behauptete Identität von Geflügeldiphtherie und Epithelioma contagiosum der Vögel durch experimentelle Untersuchungen festgestellt. Sollten alle diese Angaben sich als richtig erweisen, so würde Bordet die Züchtung des Virus der Vogelpocke geglückt sein.

Wir haben die Bordetschen Angaben in einigen Versuchen mit kutanem Taubenvirus überprüft, jedoch bisher — wahrscheinlich aus technischen Gründen — keine Resultate erzielt; wir betrachten unsere Versuche noch nicht als abgeschlossen.

Ebenso möchten wir hier kurz erwähnen, daß wir mit kutanem Taubenvirus die Erzeugung der typischen Diphtherie bei Tauben ebenfalls nicht ausführen konnten. In Analogie mit den bekannten Versuchen von Marx und Sticker wäre vielleicht an eine Mitigation unseres Virus zu denken, worüber natürlich nur weitere Versuche mit aus verschiedenen Quellen stammenden Virusarten (Haut- und Geflügeldiphtherievirus) werden Aufklärung bringen können.

Ueber Immunisierung gegen das Virus der Vogelpocke.

Das Epithelioma contagiosum der Taube stellt eine Infektionskrankheit dar, die sehr günstige Bedingungen für das Studium der Immunität abgibt. Aehnlich wie dies in der letzten Zeit für die Vaccine ausgeführt worden ist, habe ich es versucht, auch dem Mechanismus der Immunisierung gegen das Virus der Vogelpocke näherzutreten.

In der Mitteilung unserer Versuche wird stets der in ähnlichen Richtungen bei Vaccine ausgeführten Untersuchungen erwähnt werden, da beide Affektionen, Vaccine und Epithelioma contagiosum der Vögel, eine Reihe teils gemeinschaftlicher, teils divergirender immunisatorischer Momente aufweisen.

Das zweifellos sicherste Verfahren, um eine komplette Immunität der Haut zu erzielen, stellt nach den Ansichten sämtlicher Autoren die

ausgedehnte Erkrankung nach kutaner Impfung dar. Die Immunität tritt in der Regel in der 3. Woche auf; vor dieser Zeit ausgeführte Neuimpfungen ergeben, wie dies Burnet gezeigt und wie wir es bestätigen können, meist nur das Auftreten einzelner typischer Knötchen, die im Sinne von Pirquets als „Frühreaktion“ gedeutet werden können. Wie lange die Immunität besteht, darüber können wir keine Angaben machen; wir verfügen heute erst über eine 6-monatliche Beobachtungszeit.

Der Vaccine gegenüber ergibt sich bei der Erzielung der kutanen Immunität der Vögel ein nicht zu übersehender Unterschied; bei ersterer genügt das Auftreten einer im Vergleiche zur Größe der Hautoberfläche nur eine winzig kleine Hautstelle bedeckenden Pustel, um vollständige Immunität zu erzielen, während bei letzterer erst die ausgedehnte Erkrankung der Haut zu demselben Resultate führt. Streng genommen, hat man daher bei der Taubenpocke eigentlich nicht das Recht, von einer kutanen Immunisierungsmethode in experimentellen Untersuchungen zu sprechen; es handelt sich vielmehr um die Erzeugung der typischen Krankheit, nach deren Ablauf allerdings eine sehr intensive Immunität gegen das Virus sich geltend macht.

Eine zweite Methode zur Erzielung der Immunität ist die intravenöse Injektion des Virus. Burnet konnte auf intravenösem Wege das typische Bild auf der Haut erzeugen, indem er ein leichtes Trauma, beispielsweise durch Rupfen der Federn, einwirken ließ. Werden die Tauben sich selbst überlassen, so tritt ohne daß es zur Hauteruption gekommen wäre, nach 2—3 Wochen Immunität ein.

Aehnliche Verhältnisse fanden Calmette und Guérin für die Vaccine beim Kaninchen. Wir legen diesen Experimenten eine sehr große Bedeutung für die Konzeption der Pathogenese einer Reihe menschlicher Dermatosen bei und gedenken in einer späteren Arbeit noch ausführlich auf dieselben zurückzukommen.

Gegenüber den geschilderten Methoden der Immunisierung gegen das Virus des Epithelioma contagiosum der Vögel sind alle anderen von untergeordneter Bedeutung.

Durch subkutane Einverleibung des Virus — wir injizierten 1 ccm einer mäßig dicken Aufschwemmung des Virus — gelingt es, einen Teil der Versuchstiere zu immunisieren; einige Tauben reagierten jedoch bei nach 20—24 Tagen ausgeführten Reinokulationen in typischer Weise.

Bei Vaccine sind die diesbezüglichen Versuche noch nicht als endgültig abgeschlossen zu betrachten. Von Calmette und Guérin wurde durch subkutane Injektion von Vaccine Immunität beim Kaninchen, von v. Prowazek sowie von Kraus und Volk beim Affen und von Nobl beim Menschen erzielt, während von Knöpfelmacher auch abweichende Resultate erhalten wurden.

Von Interesse ist das Verhalten der Cornea sowie das Studium der Immunisierung durch die Impfung auf die Cornea, bezw. das gegenseitige immunisatorische Verhalten von Corneaepithel und Hautoberfläche.

Reischauer hatte zwar Impfungen der Cornea vorgenommen und auch das Auftreten von Einschlüssen im Cornealepithel beschrieben; er bemerkt jedoch: „Im ganzen habe ich von Hornhautimpfungen wenig Nutzen gesehen und gehe deshalb auch nicht näher hierauf ein.“

Burnet hatte die interessante Tatsache festgestellt, daß mehrere von ihm corneal geimpfte Tauben nach 17 und 19 Tagen eine voll-

ständige kutane Immunität aufwiesen. Wichtig ist auch die Bemerkung Burnets, daß ihm der Nachweis spezifischer Einschlüsse auch in solchen Corneae gelungen ist, die intra vitam keine Spur einer makroskopisch sichtbaren Trübung zeigten.

Wir selbst haben eine größere Anzahl Tauben corneal geimpft und bis auf einzelne scheinbar negative (makroskopisch) Resultate, die aus der ersten Zeit stammten, stets sehr deutlich mit freiem Auge wahrnehmbare Veränderungen der Cornea erzeugen können. Daß es sich um spezifische Affektionen der Cornea handelt, haben Reischauer und Burnet durch den Nachweis von Einschlüssen bewiesen; ich glaubte diesen Beweis noch dahin ergänzen zu müssen, daß ich die exzidierte Cornea, nach Verreibung mit einigen Tropfen sterilen Wassers, Tauben kutan einimpfte: tatsächlich erzielte ich ein außerordentlich typisches Impfresultat.

Die von mir corneal geimpften Tauben lassen sich, je nach dem zeitlichen Verhalten zur kutanen Impfung, in 3 Gruppen einreihen:

1) Corneal geimpfte Tauben wurden nach verschieden langer Zeit (vom 10.—25. Tage) kutan reinokuliert. Nach 10 Tagen besteht keine Immunität, von den später reinokulierten Tauben waren einige immun, andere reagierten in gewöhnlicher Weise.

2) Mehrere Tauben wurden verschieden lange Zeit nach der kutanen Impfung auf der Cornea reinokuliert. In keinem Falle — sei es, daß die typische Hautaffektion schon seit 2 Monaten abgeheilt ist oder noch besteht — läßt sich eine Immunität der Cornea nachweisen. Im Gegenteil, die Uebertragung der Impfpustel der Cornea auf die Haut eines normalen Versuchstieres erzeugt die typische Hautveränderung.

3) Es gelingt außerordentlich leicht, Haut und Cornea der Tauben gleichzeitig zu infizieren.

Ziehen wir wieder die Vaccine zum Vergleich herbei, so ergibt sich nach v. Prowazek sowie Kraus und Volk, daß die Cornea des immunisierten Macacus für das Virus noch empfänglich bleibt und daß die Impfung auf die Cornea keine Hautimmunität herbeiführt.

In den Beschreibungen der älteren Autoren, denen sich meist die jüngeren Arbeiten anschließen, wurde das Epithelioma contagiosum der Vögel hauptsächlich als eine Erkrankung der Haut sowie der sichtbaren Schleimhäute dargestellt; den inneren Organen wurde — bis auf Burnet — keine Aufmerksamkeit geschenkt.

Reischauer schreibt: „Erkrankungen der inneren Organe sind nicht sicher nachgewiesen, viele in der Literatur angeführten Sektionsbefunde ergaben keine Veränderungen. Bollinger betont eine ausgesprochene Anämie."

Burnet hingegen konnte zeigen, daß die Organe geimpfter Tauben virushaltig sind und zwar Leber, Milz sowie Blut der großen Gefäße. Wir selbst fanden außer den genannten Organen auch Gehirn und Niere virushaltig, konnten aber weitgehende Differenzen im Virusgehalt feststellen, indem das eine Mal die mit inneren Organen geimpften Tauben kaum einige typische Knötchen zeigten, das andere Mal ziemlich stark erkrankten.

Der Virusgehalt der inneren Organe, der auch dann zu finden ist, wenn die Versuchstiere gar keinen allgemeinen krankhaften Eindruck machen oder selbst im Abheilungsstadium sich befinden, ist von theoretischer und praktischer Bedeutung. Er demonstriert nicht nur die wohl regelmäßig aus der erkrankten Haut erfolgende Aufnahme von

Virus (in experimentellen Untersuchungen), sondern er rückt das Wesen des Epithelioma contagiosum der Tauben in ein anderes Licht. Im Gegensatz zur Auffassung älterer Autoren wird man diese Affektion als eine akute Durchseuchung des Organismus deuten müssen, bei welcher allerdings — und das ist vom dermatologischen Standpunkt nicht von allerletzter Wichtigkeit — die Haut klinisch vorwiegend oder ausschließlich beteiligt ist, während die Organe zwar ebenfalls Virus, oft in beträchtlicher Menge, beherbergen, ohne nachweisbar klinische Erscheinungen auszulösen. Denn erst das Zusammentreffen mit Geweben, zu denen das Virus spezifische Affinität besitzt, dient als auslösendes Moment für die betreffende Gewebsreaktion. Dafür spricht auch die typische Hauterkrankung der Tauben nach intravenöser Injektion, wie dies Burnet gezeigt hat und ich wiederholt habe. Bei der Vaccine konnten Calmette und Guérin nach intravenöser Injektion einer großen Virusmenge in keinem inneren Organe der Kaninchen Virus nachweisen, wohl aber konnten sie dabei typische Pustelbildung der Haut provozieren überall dort, wo sie ein leichtes Trauma, beispielsweise durch Rasieren, einwirken ließen. Im Gegensatz zu dem Epithelioma contagiosum hat das Vaccinevirus die Tendenz, rasch aus der Blutbahn und den inneren Organen zu verschwinden.

Nachdem im Gehirn mehrerer Tauben Virus nachgewiesen werden konnte, hielten wir es von Interesse nachzusehen, ob man nicht durch intracerebrale Impfung Immunität der Haut erzielen könne. Wir ließen uns dabei auch von der theoretischen Ansicht leiten, daß, nachdem das Virus eine besondere Affinität zum Ektoderm habe und nachdem wenigstens in einzelnen Fällen auch vom Cornealepithel eine Hautimmunität gewonnen werden konnte, dies eventuell auch vom Gehirn, einem ebenfalls vom Ektoderm stammenden Organ, möglich sein müsse. Unsere bisherigen Versuche haben keine sicheren Resultate ergeben und gestatten daher keine Schlüsse zu ziehen; die Versuche werden in der angedeuteten Richtung fortzusetzen sein. Erwähnen möchten wir nur an dieser Stelle, daß bei einer Taube, die 7 Tage nach der cerebralen Impfung eingegangen war, Virus im Gehirn nachgewiesen werden konnte; ob es sich hier nur um eine Konservierung des Virus, gegen welches der Organismus sich nicht erwehren konnte, oder vielleicht um eine Vermehrung im Gehirn handelt, ist eine Frage, die wir offen lassen müssen.

Paris, Dezember 1907.

Literatur.

1) Apolant, Virchows Archiv. Bd. CLXXIV.
2) Benda, Centralbl. f. allg. Path. Bd. VIII.
3) Bordet, Ref. Bull. de l'Inst. Past. 1907.
4) Borrel, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1904.
5) Burnet, Annales de l'Inst. Past. 1906.
6) Calmette et Guérin, Ann. de l'Inst. Past. 1901.
7) Carnwarth, Arbeit. des kaiserl. Gesundh. 1907.
8) Halberstädter und v. Prowazek, daselbst. 1907.
9) — —, Deutsche med. Wochenschr. 1907.
10) Kleine, Zeitschr. f. Hyg. 1905.
11) Knöpfelmacher, Wien. med. Wochenschr. No. 45.
12) Kraus und Volk, Ber. der Kais. Ak. der Wiss. 1907.
13) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII.

14) Lipschütz, Wiener klin. Wochenschr. 1907.
15) — —, Dermatol. Zeitschr. 1907.
16) Löwenthal, Deutsche med. Wochenschr. 1907.
17) Marx und Sticker, Deutsche med. Wochenschr. 1902.
18) — —, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 5.
19) Nobl, Wiener klin. Wochenschr. 1906.
20) v. Prowazek, Arbeit. des Kaiserl. Gesundh. 1907.
21) Reischauer, Centralbl. f. Bakt. Bd. XL.
22) Russ, Arch. f. Hyg. 1906.
23) Schiffmann, Centralbl. f. Bakt. 1907 und Wiener klin. Wochenschr. 1906.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Nach Löffler gefärbtes Tupfpräparat von Molluscum contagiosum des Menschen. Man sieht 2 kleinere „Molluscumkörperchen", die von sehr zahlreichen teils einzeln gelegenen, teils in kleinen Ketten angeordneten oder in Diploformen auftretenden korpuskulären Elementen umgeben sind.

Fig. 2. Nach Giemsa gefärbtes Ausstrichpräparat von Epithelioma contagiosum der Taube. Die Erklärung ist im Texte nachzulesen. Beide Zeichnungen wurden mit Leitzschem Mikroskop, homog. Immersion $^1/_{12}$ und Komp.-Okul. 8 angefertigt.

Das Genus Anonchotaenia und Biuterina.

Von Dr. **O. Fuhrmann**, Neuchâtel.

Mit 16 Figuren im Text.

Die Genera Anonchotaenia Cohn und Biuterina Fuhrmann sind zwei für die Passeriformes überaus typische Täniengruppen, welche aus zahlreichen Arten bestehen, von welchen nur eine Biuterina-Art aus der den Passeriformes nahestehenden Gruppe der Coraciiformes bekannt ist.

In den nachfolgenden Zeilen sollen sämtliche bis jetzt bekannte Arten und namentlich eine größere Zahl neuer Species kurz beschrieben werden.

Das Genus Anonchotaenia Cohn.

Dieses Genus wurde von Cohn[1]) im Jahre 1900 aufgestellt, doch leider unrichtig charakterisiert, so daß ich 1901[2]) für dieselbe Form das neue Genus Amerina schuf. In seiner großen Arbeit zur Anatomie und Systematik der Vogelcestoden[3]) hat dann Cohn seine frühere Beschreibung der typischen Art dieses Genus berichtigt, woraus mir dann die Identität der beiden Genera Amerina und Anonchotaenia ersichtlich wurde.

Nach Untersuchung sämtlicher bis jetzt bekannter und mehrerer neuer Arten muß die Diagnose folgendermaßen lauten:

Anonchotaenia: Tänien ohne Rostellum. Die Gliederung der Strobila tritt bedeutend später auf als die Anlage der Geschlechtsorgane. Die Genitalsporen sind un-

1) Cohn, L., Zur Kenntnis einiger Vogeltänien. (Zool. Anz. Bd. XXIII. 1900. p. 94.)
2) Fuhrmann, O., Neue Arten und Genera von Vogeltänien. (Zool. Anz. Bd. XXIV. 1901 p. 271.
3) In Nova Acta. Bd. LXXIX. 1901. p. 392.

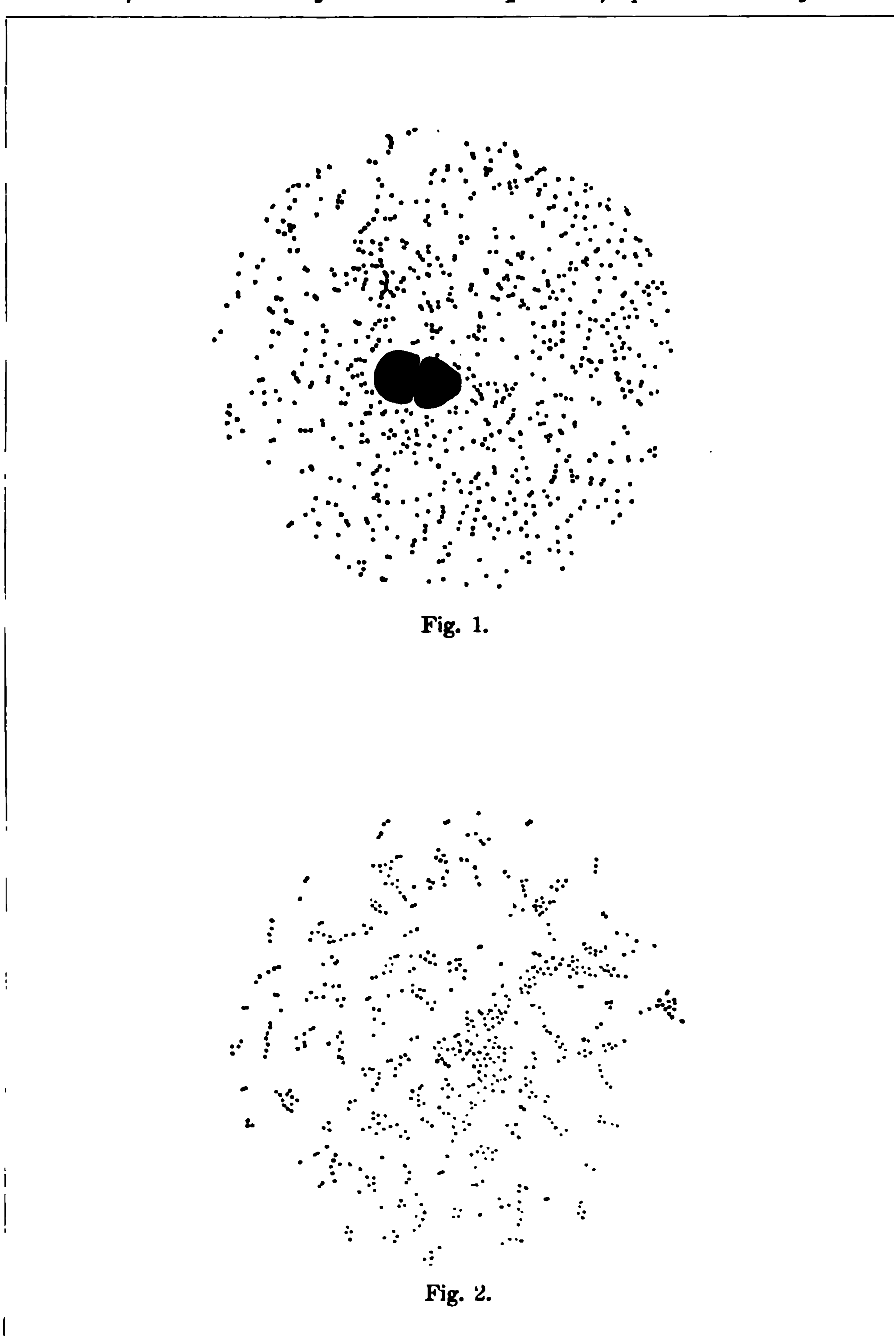


Fig. 1.

Fig. 2.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

regelmäßig abwechselnd[1]). Die Genitalgänge gehen unter den Wassergefäßen und dem Längsnerven durch zur Genitalkloake. Die Hoden sind wenig zahlreich und dorsal gelegen. Der Keimstock, Dotterstock und der Uterus sind klein und sackförmig. Dem Uterus liegt ein parenchymatöses Paruterinorgan an, in welches später die Eier eintreten und das dann eine Kapsel um dieselben bildet. Bis jetzt nur aus Vögeln bekannt. Die typische Art für dieses Genus ist A. globata (v. Linstow), mit welcher die von Cohn aufgestellte typische Art A. clava Cohn synonym ist (s. unten).

Anonchotaenia globata (v. Linstow) (1879)[2]).

Fig. 1—7.

Synonymie:

T. Rudolphiana v. Linstow 1879[2]),
T. breviceps v. Linstow 1879[2]),
T. Loxiae recurvirostrae Blumbach [siehe [2])],
T. clavata Marchi 1869[3]),
A. clava Cohn 1900[4]),
A. alaudae Cerruti 1901[5]),
A. inermis Fuhrmann 1901[6]).

Wirte: Alauda arvensis L., Galerita cristata L.; Periparus ater L., Parus coeruleus (?)[7]), Parus major, Parus palustris; Nectarinia calcarata (?)[1]), Nectarinia metallica Licht. (?)[1]); Fringilla scapularis, Spermophila coerulescens Bonn., Fringilla coelebs L., Fringilla linaria L., Fringilla ruficeps(?)[7]), Chrysomitris spinus L., Passer domesticus L., Passer simplex Licht., Passer montanus L., Loxia curvirostra L., Emberiza melanocephala Scop., Zonotricha pileata Bodd.

Geographische Verbreitung: Europa, Asien und Amerika,

Unterwerfen wir zunächst die verschiedenen Synonyme dieser Art, welche ich auf Grund eigener Untersuchungen zusammengestellt, kurz einer näheren Betrachtung.

Aus der helminthologischen Sammlung des Museum von Stuttgart beschreibt O. v. Linstow (loc. cit.) sehr summarisch 3 neue Arten von Tänien, welche sich namentlich dadurch auszeichnen, daß sie kein Rostellum besitzen. Es sind dies Taenia Rudolphiana v. Linstow (nach v. Linstow synonym T. Loxiae recurvirostrae Blumbach), ferner Taenia globata v. Linst. und Taenia breviceps v. Linst.

Die Untersuchung des Originalmateriales hat nun ergeben, daß die von keiner Figur begleiteten Arten T. globata und T. breviceps

1) Nach Cholodkowsky, Cestodes nouveaux on peu connus (Arch. d. parasitologie. T. X. 1906) sollen die Genitalporen von A. oriolina regelmäßig abwechselnd sein, was aber nicht zutrifft.

2) v. Linstow, O., Helminthologische Untersuchungeu. (Jahreshefte d. Vers. f. vaterl. Naturkunde. Jg. XXXV. 1879.)

3) Marchi, P., Sopra una Taenia della Loxia curvirostria. (Atti soc. ital. sc. nat. Vol. XII. 1869.)

4) loc. cit. in Zool. Anz. u. Nova acta.

5) Cerruti, A., Di un tenioide dell'Alauda arvensis. (Atti della R. Academia sc. fis. e mat. Napoli. Vol. XI. 1901.)

6) loc. cit.

7) Die mit einem Fragezeichen versehenen Vogelnamen konnten im großen Katalog des Britischen Museums nicht aufgefunden werden.

sicher identisch sind. Der Durchmesser des Skolex ist bei beiden gleich, die Strobila nur bei T. breviceps etwas mehr kontrahiert. Beide Arten sind entgegen der Angabe des Autors geschlechtsreif und ist ohne weitere Präparation der eigentümliche Bau des Uterus und der Eier leicht ersichtlich. Die Originale der dritten Art T. Rudolphiana

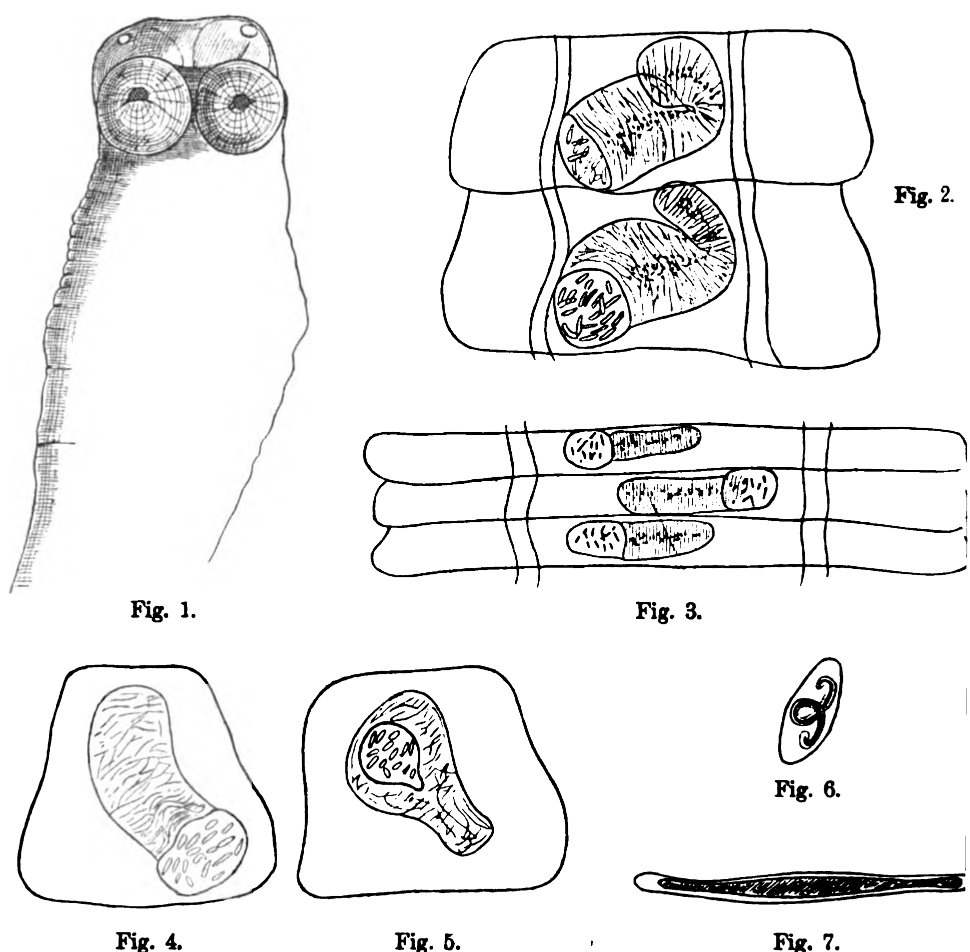


Fig. 1. Skolex von A. globata (v. Linstow).
Fig. 2. Reife Glieder mit Uterus und Paruterinorgan von A. globata.
Fig. 3. Reife Glieder mit Uterus.
Fig. 4. Reife Glieder mit Uterus.
Fig. 5. Reifes Glied mit Eikapsel im Innern des Paruterinorganes.
Fig. 6 u. 7. Ei mit der langgestreckten Oncosphäre.

sind dagegen noch sehr jung, der Skolex etwas kleiner in seinem Durchmesser, doch scheint mir trotzdem diese Art identisch mit den beiden obigen. Von diesen drei nacheinander beschriebenen neuen Arten v. Linstows, die in Wirklichkeit identisch sind, habe ich den Artnamen globata gewählt, und den an erster Stelle angeführten Speciesnamen T. Rudolphiana nicht als Name des Typus gewählt, weil

letztere Art noch keine Geschlechtsorgane aufweist und die vorliegenden Exemplare sehr jung sind.

Die T. globata v. Linstow ist nun des eingehenden beschrieben worden unter zwei neuen Artnamen A. clava Cohn 1900 und T. alaudae Cerruti 1901 (loc. cit.). Ich selbst habe in meiner Diagnose des Genus Amerina dieselbe Tänie als A. inermis Fuhrmann 1901 kurz charakterisiert.

Nun hat aber auch Marchi (loc. cit.) aus Loxia curvirostra 4 Exemplare eines jungen Cestoden kurz beschrieben und gezeichnet unter dem Namen Taenia clavata. Diese Tänie ist noch ohne Geschlechtsorgane und wohl sicher eine Anonchotaenia und mit obigen Arten wahrscheinlich identisch.

So hätte also A. globata nicht weniger als 7 Synonyme.

Die Art ist bereits eingehend von Cerruti und Cohn beschrieben worden, so daß ich mich auf einige berichtigende und ergänzende Bemerkungen beschränken will.

Charakteristisch für diese Art ist, daß entgegen der Angabe von Cohn das Collum nicht vollkommen fehlt, sondern im Gegenteil, äußerlich wenigstens, relativ lang ist. In der Tat sehen wir z. B. bei 3 cm langen Exemplaren von A. globata aus Zonotricha, daß die äußere Segmentation der Strobila 5 mm hinter dem Skolex beginnt, während sich die Anlagen der Geschlechtsorgane bereits 0,6 mm hinter dem Skolex zeigen. Diese Eigentümlichkeit konnte ich bei allen Arten konstatieren, und ist bei einigen noch deutlicher ausgebildet.

Was nun die Anatomie der Geschlechtsorgane anbetrifft, so habe ich der trefflichen Beschreibung von Cerruti kaum etwas beizufügen. Namentlich die Abbildungen dieses Autoren sind bedeutend besser als bei Cohn (loc. cit.).

Das Paruterinorgan, welches dem kleinen sphärischen Uterus aufsitzt, kann scheinbar sehr verschiedene Lagebeziehungen zu diesen haben und in der Form etwas wechseln, je nach dem Kontraktionszustand der reifen Glieder. Bei verschieden kontrahiertem Material kann man deshalb leicht verleitet werden, anzunehmen, daß verschiedene Arten vorliegen.

In stark kontrahierten Gliedern kann das Paruterinorgan in der Querrichtung der Proglottis gestreckt, links oder rechts am Uterus liegen. Streckt sich die Proglottis, so stellt sich das Paruterinorgan schief zur Querachse des Proglottis und zwar so, daß z. B. der Uterus links hinten im Markparenchym liegt, während die Spitze des Paruterinorganes nach rechts vorn im Gliede gerichtet ist. Oft ist es dann nicht gerade diagonal verlaufend, sondern am Vorderende umgeschlagen (Cerruti, Fig. 3). Bei sehr starker Streckung kann dann das Paruterinorgan fast (Cohn loc. cit. Fig. 70) oder ganz vor dem Uterus liegen und entstehen dann Bilder, wie sie W. Clerc[1]) für A. bobica Clerc gezeichnet hat (Taf. 10, Fig. 56). Diese verschiedenen Stellungen des Paruterinorganes zum Uterus konnte ich auch bei dem Typenmaterial von A. globata beobachten. In ganz reifen Gliedern tritt dann die Eimasse des Uterus in das Parenchymorgan ein, daß sie dann mit einer auf Totalpräparaten braun gefärbt scheinenden dünnen Kapsel umgibt, welche außen von dem eigentümlichen Parenchymgewebe des Paruterinorganes umgeben wird. Der Uterus verschwindet dabei ganz.

---

1) Clerc, W., Contribution à l'étude de la faune helminthologique de l'oural. (Rev. Suisse de Zool. T. XI. 1903.)



Die Eihüllen enthalten eine eigentümlich wurmförmige Oncosphäre, die ich aber nicht bei allen Arten des Genus konstatieren konnte, also für das Genus nicht typisch ist.

Wie aus der oben angegebenen Wirtliste ersichtlich, in welcher zahlreiche neue Wirte angegeben, zeigt diese Art eine sehr weite Verbreitung. Unter den Vögeln, in welchen diese Art sich gefunden, ist namentlich das Vorkommen in Nectarinia calcarata und Nectarinia metallica auffallend, da diese Vögel einer ganz besonderen Gruppe der Passeriformes angehören.

Anonchotaenia oriolina Cholodkowsky.

Ich habe dieselbe Art ebenfalls in Oriolus galbula L. konstatiert (Hofmuseum von Wien, Glas 265a) und kann deshalb 2 Punkte in der Beschreibung Cholodkovskys[1]) berichtigen. Zunächst sind die Genitalporen nicht regelmäßig abwechselnd, sondern wie bei allen Anonchotaenia-Arten unregelmäßig abwechselnd, was übrigens aus der Zeichnung Fig. 2 des Autoren selbst ersichtlich. Allerdings findet man stellenweise auf einer größeren Zahl von Gliedern regelmäßiges Abwechseln der Genitalöffnungen.

Cholodkovsky gibt an, daß ich wohl das Ovarium mit dem Dotterstock und umgekehrt verwechselt habe, dies ist keineswegs der Fall, sondern dem Autor selbst ist dieser Irrtum unterlaufen, denn es ist der Keimstock und nicht der Dotterstock der dem Längswassergefäß am nächsten liegt.

Diese Art nnterscheidet sich von der vorigen namentlich durch die bedeutend größere Zahl von Hoden (15 und mehr).

Anonchotaenia bobica Clerc.

Synonym: Amerina inermis Fuhrmann Clerc[2]).

Diese Art wurde zuerst von Clerc als A. inermis Fuhrmann bezeichnet[2]), es stellte sich dann aber heraus, daß es sich um eine neue Art handelt, welche Clerc eingehend beschrieb[3]). Die Species ist der Typus einer besonderen Gruppe im Genus Anonchotaenia, Gruppe, welche sich dadurch auszeichnet, daß das Paruterinorgan sich wie bei Biuterina, Metroliasthes und anderen Genera vor und nicht seitlich vom Uterus anlegt (loc. cit. Fig. 56). Die Hoden sind in eine linke und rechte Gruppe geteilt, es finden sich deren 10.

---

1) Cholodkovsky, N., Cestodes nouveaux on peu connus I. (Arch. de parasitol. T. X. 1906. No. 3.) Hier seien einige Bemerkungen über diese Arbeit angeschlossen. Die neue Art Dilepis brachyarthra aus Turdus ist sicher identisch mit der gemeinen Art Dilepis undulata (Rud.). Hymenolepis tetracis n. sp. ist gleichzeitig mit H. dentatus Clerc beschrieben worden; beide Arten sind identisch, doch gilt der von Ch. gegebene Name. Monopylidium soricinum n. sp. ist eine Choanotaenia, und Amoebotaenia subterranea n. sp. eine Anomotaenia.

2) Clerc, W., Contribution à l'étude de la faune helminthologique de l'oural. II. (Zool. Anz. Bd. XXV. 1902. Note préliminaire.)

3) Clerc, W., Contribution à l'étude de la faune helminthologiqne de l'oural. (Revue suisse de zool. T. XI. 1903.)

Anonchotaenia longiovata Fuhrmann 1901[1]).

Fig. 8—11.

Wirte: Icterus cayennensis (G.), Agelaius curaeus (wohl identisch mit Curacus aterrimus Kittl), Loxops spec.; Plegadis guarauna (Lin.)?

Geographische Verbreitung: Südamerika und Sandwich-Inseln (Loxops).

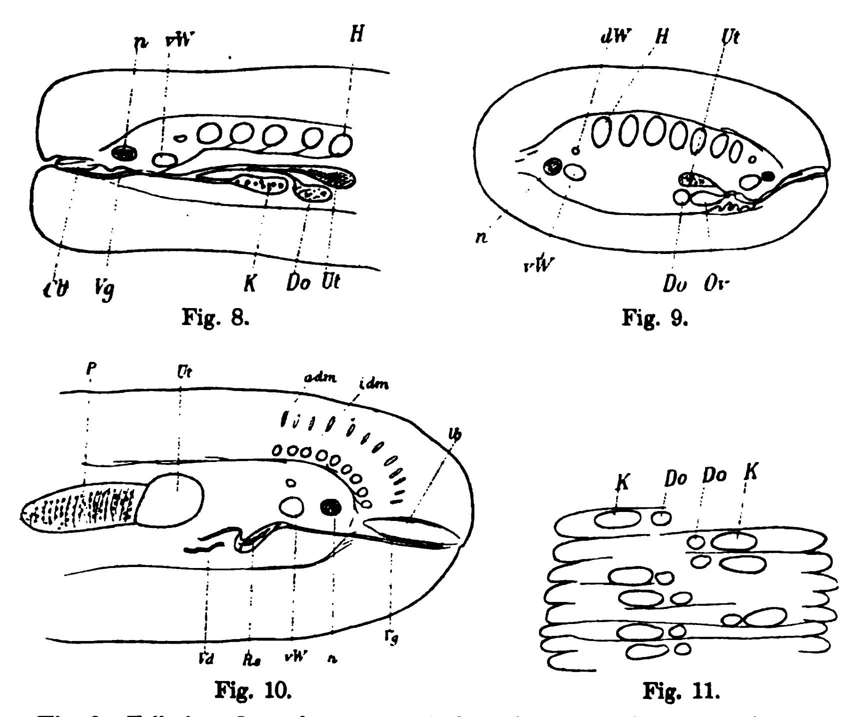


Fig. 8. Fig. 9. Fig. 10. Fig. 11.

Fig. 8. Teil eines Querschnittes von A. longiovata Fuhrmann. *N* Längsnerv, *vW* ventrales Wassergefäß, *Cb* Cirrusbeutel, *H* Hoden, *Vg* Vagina, *K* Keimstock, *Do* Dotterstock, *Ut* junger Uterus.

Fig. 9. Querschnitt von A. longiovata. Bezeichnungen wie Fig. 8.

Fig. 10. Teil eines Querschnittet durch ein reifes Glied von A. longiovata. *Ut* Uterus, *P* Paruterinorgan, *Rs* Receptaculnm seminis, *Vd* Vas deferens, *aLm* äußere Längsmuskulatur, *iLm* innere Längsmuskulatur.

Fig. 11. Flächenschnitt durch eine Reihe junger Glieder von A. longiovata. *Do* Dotterstock, *K* Keimstock.

Diese Art wurde von mir als Typus des von mir aufgestellten Genus Amerina bezeichnet und ist die Beschreibung derselben in der im Zoologischen Anzeiger gegebenen eingehenden Diagnose der Gattung enthalten. Das Material stammt für Icterus und Agelaius von Prof. Neumann (Toulouse), für Loxops von Prof. Shipley (Cambridge) und für Plegadis von Prof. C. Parona (Genua). Dieser letztere Wirt scheint mir zweifelhaft, denn es ist nicht leicht denkbar, daß Passeri-

---

1) Fuhrmann, O., Neue Arten und Genera von Vogeltänien. (Zool. Anz. Bd. XXIV. 1901.)

formes und Ciconiformes ein und dieselbe Art von Cestoden beherbergen können.

Dieser kleine Cestode wird ca. 7 cm lang und 1 mm breit. Sein Skolex mißt 0,34—0,39 mm im Durchmesser.

Wie für alle Amerina-Arten, so auch für diese, ist charakteristisch, daß die Geschlechtsorgane bedeutend früher in der Strobila erscheinen als die äußere Strobilation. So finden wir 2,2 mm hinter dem Skolex bereits deutliche Anlagen der Sexualorgane, während 9,5 mm hinter dem Skolex die äußere Gliederung kaum sichtbar und erst 17 mm hinter dem Skolex deutlich wird, ohne daß aber eine tief einschneidende Segmentation sich zeigt.

Anatomisch ist die Art sehr ähnlich A. globata.

Die Muskulatur der Strobila besteht aus 2 Längsmuskelzonen und einer inneren Transversalmuskulatur. Die äußeren Längsmuskelbündel sind zahlreicher und etwas kleiner, indem sie nur 10—12 Fasern umfassen, während die inneren Bündel aus 12—17 Fasern bestehen. Die Transversal- und Dorsoventralmuskulatur ist schwach entwickelt. Kalkkörperchen finden sich namentlich im Skolex, aber auch im Rindenparenchym und drängen sie sich daselbst oft zwischen die Subcuticularzellen ein.

Die Genitalöffnungen liegen unregelmäßig abwechselnd rechts und links am Strobilarande. Die Genitalkloake ist flach. Sehr typisch für die Genitalgänge ist, daß sie unter dem Nervensystem und den beiden Längswassergefäßen durch ins Markparenchym eindringen. Der Cirrusbeutel ist immer klein, 0,07—0,08 mm lang und erreicht so die äußere Längsmuskelzone nicht, liegt also ganz im Rindenparenchym. Er ist ziemlich muskulös und von langgestreckter Form: sein Vas deferens zeigt nach dem Austritt aus der Penistasche schwache Windungen. Die Hoden, 8—10 an der Zahl, liegen ganz dorsal. Sie sind bei Flächenansicht je nach dem Kontraktionszustand des Gliedes längs- oder queroval und liegen in einer Reihe, die ganze Breite des Markparenchyms ausfüllend.

Die Vagina ist starkwandig, verläuft ventral vom Cirrusbeutel und zeigt in befruchteten Gliedern innerhalb der Wassergefäße ein kleines, spindelförmiges Receptaculum seminis.

Die Art der Zusammenmündung der weiblichen Genitalgänge ist sehr vereinfacht, wie am besten aus beistehender Figur hervorgeht.

Die Genitaldrüsen, Ovarien und Dotterstock sind sehr klein, auf einem Querschnitt zeigt das eiförmige Ovarium einen Breitendurchmesser von 0,07 mm, der mehr sphärische Dotterstock einen solchen von 0,036 mm. Ihre Lage ist sehr typisch, indem der Dotterstock je nach der Ausmündung der Genitalgänge auf der poralen Seite links oder rechts von der Medianlinie der Strobila liegt, dieselbe fast berührend.

Neben ihm randwärts liegt das kleine ungelappte Ovarium. Beide Geschlechtsdrüsen liegen ganz ventral, doch zeigt namentlich der ganz junge Dotterstock eine etwas dorsalere Lage als der Keimstock. Ovidukt und Vitellodukt sind sehr kurz und auf letzterem sitzt dorsal, in jungen Gliedern, eine sich dunkelfärbende Zellmasse, die Uterusanlage. Die Schalendrüse scheint zu fehlen. Später bildet sich eine Höhle in der Uteruszellmasse und legt sich an der antiporalen Seite der kleinen Uterushöhle ein eigentümliches Parenchymorgan das Paruterinorgan an, das sich vom Markparenchym scharf abgrenzt. Das Paruterinorgan erscheint von lamellöser Struktur mit zahlreichen zentral gelegenen Kernen.

Es ist langgestreckt, transversal verlaufend und am antiporalen Ende häufig umgebogen.

Die Eier sind wenig zahlreich und ist, wie bei A. globata, die Oncosphäre langgestreckt, wurmförmig. Die Länge der Eier beträgt 0,09 mm bei einem Durchmesser von nur 0,009 mm.

In ganz reifen Gliedern treten die Eier in das Paruterinorgan ein.

Anonchotaenia trochili nov. spec.

Fig. 12.

Wirt: Eupetomena macrura (Gm.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Ost-Brasilien.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas No. 445.

Von dieser sehr kleinen Art besitze ich nur Fragmente. Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,25 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,1 mm. Die reifen Glieder der sehr schmalen Strobila maßen nur 0,18 mm, in der Breite dagegen, da, wo die Geschlechtsorgane gut entwickelt sind, der Durchmesser 0,32 mm.

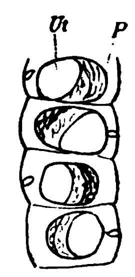


Fig. 12. A. trochili Fuhrmann, reifes Glied.

Von der Anatomie des nicht sehr gut erhaltenen Cestoden sei nur das Charakteristische besprochen.

Der Cirrusbeutel ist verhältnismäßig groß, indem er 0,06 mm lang ist und, was sonst in diesem Genus nicht vorkommt, erreicht er das Längswassergefäß. Die Hoden scheinen nur in der Vierzahl vorhanden zu sein.

In den reifen Gliedern finden wir, daß das Paruterinorgan bedeutend kleiner ist, als der Uterus und demselben seitlich antiporal und etwas dorsal kappenartig aufsitzt.

Anonchotaenia macrocephala n. sp.

Fig. 13.

Wirte: Progne purpurea (Linn.), Progne tapera Linn., Progne chalybea Gm.), Hirundo spec.. Hirondella spec.

Geographische Verbreitung der Wirte: Zentral- und Südamerika.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien; Glas No. 457, 453, 456, 458; Museum für Naturkunde Berlin, Glas 1845.

Diese typische Art, deren Länge ca. 8 cm und deren größte Breite 1 mm ist, wurde in zahlreichen brasilianischen Hirundiniden gefunden.

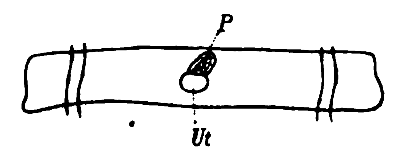


Fig. 13. A. macrocephala Fuhrmann, reifes Glied.

Der Skolex dieser Art ist sehr groß, er mißt 0,8 mm im Durchmesser, die Saugnäpfe haben einen Diameter von 0,38 mm. Die Anatomie zeigt sich besonders im Bau des Uterus sehr typisch.

Der Cirrusbeutel ist keulenförmig 0,1 mm lang, das Vas deferens stark geschlungen; die Hoden sind in der Zahl vou 10—13 vorhanden. Die Genitaldrüsen zeigen dieselbe Lage wie im A. longiovata.

Der Uterus ist im Verhältnis zur Breite der Proglottis sehr klein, indem in einem Gliede, das 0,8 mm mißt, der Durchmesser des Uterus nur 0,08 mm beträgt. Das Paruterinorgan ist kleiner, gleich oder nur wenig größer als der Uterus. Es ist vor demselben gelegen und häufig leicht rechts oder links geneigt, je nachdem die Genitalöffnung links oder rechts liegt.

Anonchotaenia brasiliense n. sp.

Wirt: Cassicus haemorrhous.

Geographische Verbreitung: Südamerika.

Fundort: San Paolo.

Diese neue Form wurde mir von Dr. Lutz in San Paolo (Brasilien) zur Bearbeitung überlassen. Der Wurm ist 3—4 cm lang und 0,75 mm breit. Der große Skolex mißt 0,5 mm und seine 4 Saugnäpfe haben als Durchmesser fast die Hälfte des Durchmessers des Skolex. Die Gliederung der Strobila ist mit starker Lupe erst 1,8 cm hinter dem Skolex sichtbar, die Geschlechtsorgane beginnen sich aber sofort hinter dem Kopfe zu entwickeln.

Man sieht sehr wenige Kalkkörperchen im Parenchym.

Die Anatomie ist sehr ähnlich der der typischen Art. Der Cirrusbeutel ist birnförmig, 0,23 mm lang, die Hoden sind etwa 8 an der Zahl. Von den weiblichen Geschlechtsorganen verdient nur der Uterus und das Paruterinorgan eine nähere Beschreibung. In der Flächenansicht sehen die reifen Glieder sehr ähnlich den auf Fig. 3 abgebildeten Proglottiden von A. globata, nur ist das Paruterinorgan gerade so breit wie der Uterus; beide nehmen die ganze Länge des Gliedes in Anspruch. In einer 0,78 mm breiten Proglottis ist das Markparenchym 0,4 mm breit, der Uterus und das Paruterinorgan haben je einen Breitendurchmesser von 0,148 mm. Die Oncosphären sind sphärisch und nicht langgestreckt, wie bei A. globata.

Anonchotaenia conica n. sp.

Fig. 14—16.

Wirt: Dendrocopus major Linn.

Geographische Verbreitung desselben: Europa, Kleinasien, Süd-Sibirien.

Fundort: Europa, Naturalienkabinett Stuttgart, Glas No. 13.

Dieser Vertreter des Genus Anonchotaenia gehört in die Nähe der von Clerc beschriebenen A. bobica. Der Cestode besitzt eine Länge von 6 cm und eine Breite von 0,5 mm.

Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,8 mm und sieht man an dem leicht vorgestreckten Scheitel eine kleine enge Depression, ohne daß aber ein Rostellum vorhanden wäre.

Die Genitalöffnungen sind sehr unregelmäßig abwechselnd (l, l, l, l, r, r, r, r, l, r, r, r, r, r, l, l, l, r, r, l, l, r, l, l, l etc.)

Die Hoden sind, mindestens 16 an der Zahl, in doppelter Querreihe angeordnet. Bei den weiblichen Geschlechtsdrüsen ist auffallend, daß, wie bei A. bobica, das Ovarium median und der Dotterstock von ihm etwas dorsal und ebenfalls median liegt. Auch der Uterus zeigt Aehnlichkeit mit demjenigen obengenannter Art. Derselbe zeichnet sich zunächst durch seine bedeutendere Größe aus, indem er als querlaufender Sack die ganze Breite des Markparenchyms einnimmt. Ihm sitzt vorn mit sehr breiter Basis das typisch geformte Paruterinorgan auf. Die Eier scheinen von den beiden verbreiteten seitlichen Enden des Uterus aus ins Paruterinorgan einzudringen oder sich in demselben nach dem medianen Eindringen seitlich zu gruppieren. Letzteres scheint eher der Fall zu sein.

Die Eier zeigen einen Embryo, der nicht langgestreckt, sondern von gewöhnlicher Form ist.

Diese Art sowie A. bobica Clerc zeigen einige Aehnlichkeit mit den bewaffneten Vertretern des Genus Biuterina. Nach dem Eindringen der Eier in das Paruterinorgan verschwindet der Uterus vollkommen.

Außer den oben beschriebenen Arten und angegebenen Wirten der Vertreter des Genus Anonchotaenia sind mir noch aus einer ganzen

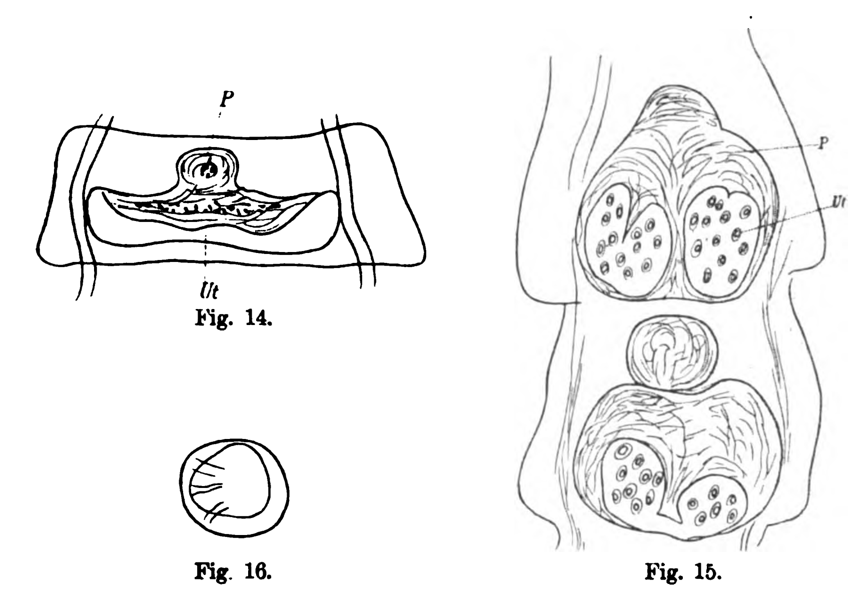


Fig. 14.

Fig. 16.

Fig. 15.

Fig. 14. A. conica Fuhrmann. Glied mit Uterus und Paruterinorgan.
Fig. 15. A. conica Fuhrmann. Flächenschnitt durch 2 reife Glieder mit Eiern im Paruterinorgan.
Fig. 16. A. conica Fuhrmann. Oncosphäre.

Reihe von Vögeln Anonchotänien bekannt, die aber wegen ihres mangelhaften Erhaltungszustandes nicht sicher bestimmt werden konnten. Es sind dies folgende südamerikanische Vogelarten: Tanagra spec., Eucometis pendeillatus Sel., Tachyphonus melaleucus Spar., Sarphophaga hypolema Scl., Tyrannus melancholicus Vieill., Cassidix oryzivora Gm.

In diesem Material sind wohl 3 neue Arten enthalten, die aber wegen des schlechten Erhaltungszustandes nicht genügend charakterisiert werden konnten.

Ueber die Anpassung der Bakterien an die bakteriolytische Eigenschaft des Blutserums.

Experimentelle Untersuchungen.

[Hygienisches Institut der Königlichen Universität zu Palermo. (Direktor: Prof. L. Manfredi).]

Von Dr. **Eduardo Carapelle,** Assistenten des Instituts, unter Mitwirkung von **Antonino Guell,** cand. med.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

Es besteht jetzt kein Zweifel mehr über die bakteriolytische Wirkung des Blutserums auf die Bakterien, welche in den Kreislauf eindringen.

Die bakteriziden Eigenschaften des Blutes waren zuerst von Fodor[1]) an vielen Bakterienspecies studiert worden. Indessen nicht alle Sera besitzen dieselben Eigenschaften; so behaupten Nuttal[2]), Nissen[3]), Buchner[4]), Lubarsch[5]) und Behring[6]) die bakterizide Wirkung des Kaninchenserums gegenüber dem Milzbrandbacillus, während De Renzi[7]), Pane[8]), Behring und Nissen[9]) diese Eigenschaft dem Meerschweinchen-, Ratten-, Katzen-, Hunde- etc. Serum absprechen.

Ueber die Wirkung des Hundeblutserums auf den Milzbrandbacillus herrschten eine gewisse Zeit lang verschiedene Anschauungen, insofern als von einigen [Bakunin und Boccardi[10])] eine solche Wirkung angenommen, von anderen dagegen [Behring und Nissen, Pane[11])] geleugnet wurde.

Gengou[12]) und Casagrande[13]) behaupteten in ihren Versuchen, daß die deutliche Verminderung der Anzahl der Milzbrandbacillen auf die Agglutinationserscheinung und nicht auf eine bakterizide Wirkung zurückzuführen wäre. Denys und Kaisin[14]) fanden, daß das Hundeblutserum bakterizid gegenüber dem Bacterium coli wirke, und Wright[15]) gab eine genaue Technik zum Studium der bakteriziden Wirkung des Blutserums auf den Typhusbacillus an, wobei die durch die Agglutination bedingten Irrtümer vermieden wurden.

Da uns diese Untersuchungen bekannt waren und Dr. Carapelle[16]) sich mit dem Anpassungsvermögen der Bakterien an ungünstige Bedingungen physikalischer Natur beschäftigte, so suchten wir jetzt die

---

1) Archiv für Hygiene. Bd. IV.
2) Zeitschr. f. Hygiene. 1888.
3) Zeitschr. f. Hygiene. 1889.
4) Archiv für Hygiene. 1890.
5) Centralbl. f. Bakt. 1889.
6) Zeitschr. f. Hygiene. 1890.
7), 8) III. Congresso di medicina. 1890.
9) Zeitschr. f. Hygiene. 1890.
10) Riforma medica. 1891.
11) IV. Congresso di medicina. 1891.
12) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1899.
13) Annali d'Igiene speriment. 1900.
14) La Cellule. 1893.
15) The Lancet. 1900—1901.
16) Boll. della Soc. Siciliana d'Igiene. 1902.

Anpassung der Bakterien an ungünstige Lebensbedingungen physiologischer Natur zu studieren. Substanzen, welche die erforderlichen Versuchsbedingungen erfüllen, sind die organischen Flüssigkeiten im allgemeinen (Ascites-Flüssigkeit, Pleura-Exsudate, peritoneale Flüssigkeiten, Humor aqueus, defibriniertes Blut, Blutserum etc.).

Bei der Erzeugung dieser Anpassung sind es nicht nur die morphologischen Eigenschaften, welche variieren, sondern auch jene, welche die biologischen Funktionen im allgemeinen und die Virulenz im besonderen betreffen.

Hierdurch läßt es sich erklären, wie einige Mikrobenspecies ihre seit langer Zeit verlorene Virulenz wiedergewinnen oder pathogen werden können, während sie es früher nicht waren; auf diese Weise können im ersten Falle gewisse seit langer Zeit erloschene Epidemieen oder im zweiten Falle eine neue Infektionskrankheit wieder auftreten.

Diese schon seit langer Zeit aufgestellte und von Pasteur, Chamberland und Roux[1]) gestützte Hypothese ist durch die jüngsten Versuche bestätigt und illustriert worden.

Daß die saprophytischen Bakterien, wenn sie in an Blut immer reicheren Nährböden kultiviert worden sind, eine pathogene Wirkung erwerben können, zeigen die Untersuchungen von Charrin und von de Nittis[2]) am Bacillus subtilis.

Vincent[3]) ferner gelang es durch Verwendung von Kollodiumsäckchen, die er in die Bauchhöhle von Meerschweinchen brachte, den Bacillus mesentericus und B. megatherium pathogen zu machen. Es ist ferner bekannt, daß die Körperflüssigkeiten auch imstande sind, abgeschwächten pathogenen Bakterien die frühere Virulenz wiederzugeben. So fügte Hafkine[4]) der Bouillon, die er mit Typhusbacillen geimpft hatte, immer steigende Mengen von Humor aqueus vom Kaninchen hinzu und erreichte auf diese Weise schließlich, daß sich die Bacillen in reinem Humor aqueus kultivieren ließen. Diese Anpassung ging ferner um so leichter vor sich, je virulenter die Bacillen waren.

Kionka bestritt die Versuche von Hafkine mit Hilfe von Untersuchungen, die aus verschiedenen Gründen nicht einwandsfrei waren, und zwar namentlich deshalb, weil die Versuchs- und Kontrollbesäungen nicht mit einer Zahl vergleichbarer Bakterien angestellt worden waren.

Trommsdorff[5]) bemerkte, daß die Pleuraexsudate bakterizid wirkten und erzielte eine Anpassung der Typhusbacillen an dieselben. Jüngst hat auch Martoglio[6]) gezeigt, daß die nichtpathogenen Keime eine pathogene Wirkung annehmen können, und daß jene, welche ein saprophytisches Leben führen und den bekannten pathogenen sehr ähnlich sind, nichts anderes als abgeschwächte pathogene darstellen.

Diese Versuche erhalten eine Stütze durch die Untersuchungen von Casagrande[7]), aus welchen hervorgeht, daß von jeder Pathogenität freie typhusähnliche Bacillen unter bestimmten Lebensbedingungen alle charakteristischen biologischen und morphologischen Eigenschaften des

---

1) Acad. des Sciences. 1881.
2) Soc. de Biolog. 1898.
3) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1898.
4) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1890.
5) Archiv für Hygiene. 1901.
6) Annali d'Igiene speriment. 1890.
7) Annali d'Igiene speriment. 1901.

Typhusbacillus haben annehmen können, so daß man sie miteinander verwechseln konnte.

Zu unseren Untersuchungen haben wir uns des Blutserums bedient, weil bis heute nur wenige Versuche mit diesem Medium angestellt worden sind.

Maurel[1]) stellte fest, daß der Staphylococcus aureus sich nach einer gewissen Zeit gut in Gegenwart von Blut kultivieren ließ. Szekely[2]) gelang es zu zeigen, daß der Milzbrandbacillus sich an ein Leben in defibriniertem Blute und im Blutserum anpaßte. Bei Verwendung von Nährmedien, die an Rattenblutserum immer reicher waren, erzielte Sawtschenko[3]) eine Anpassung des Milzbrandbacillus; dasselbe Resultat hatte er mit Tauben- und Pferdeserum. Danys[4]) machte in analoger Weise den Milzbrandbacillus gegen die bakterizide Wirkung des Rattenblutserums widerstandsfähig, und Shaw erhöhte die Virulenz desselben Bacillus durch seine Kultur in mit Menschenblutserum vermischtem Agar.

Trommsdorff[5]) zeigte bei seinen Versuchen mit Typhus und mit Cholera zuerst, daß diese Species sich gut in defibriniertem inaktivierten Blute kultivieren ließen, und ferner gelang es ihm, eine gewisse Anpassung des Typhusbacillus an das aktive Blutserum zu erreichen. Die Arbeit von Trommsdorff verdient einige Beachtung in dieser Hinsicht. Durch die Arbeiten von Carapelle war uns bekannt, daß der Bacillus subtilis sich an das aktive Serum anpaßte, und daß der Pneumonie-Diplococcus, in immer aktivem Blutserum kultiviert, sich nicht nur üppig entwickelte, sondern daß sogar allmählich seine Virulenz verstärkt wurde, während es doch bekannt ist, wie dieser Mikroorganismus in den gewöhnlichen Nährmedien abgeschwächt wird. Die genannte Arbeit von Trommsdorff bestätigt nur die erwähnten noch unveröffentlichten Untersuchungen, aber sie ist nicht allzusehr überzeugend, weil der Autor nur einige Versuche mit dem Choleravibrio und nur drei mit dem Typhusbacillus ausgeführt hat, bei welchen die ausgesäten Bakterien nicht voneinander abstammten. Nach unserer Ansicht kann man daher nicht von einer echten Anpassung sprechen, sondern nur von einem Ueberleben oder, besser gesagt, davon, daß unter normalen Bedingungen einige Bakterien, und zwar vielleicht die kräftigsten, der Bakteriolyse entgehen. Eine echte Anpassung aber, wie wir sie bei unseren Versuchen, die wir im folgenden auseinandersetzen werden, hervorgerufen haben, liegt hier nicht vor.

Sacharoff[6]) erzielte eine Anpassung des Milzbrandbacillus an das aktive Serum. Wenn aber seine Untersuchungen auch hinsichtlich der biologischen Modifikationen, welche die in dieser Weise kultivierten Bacillen erleiden, erschöpfend sind, so lassen sie doch noch eine Wiederaufnahme und Fortführung als wünschenswert erscheinen; denn nach Ansicht dieses Autors findet eine Virulenzsteigerung der Bacillen nicht statt, selbst wenn man sie fortwährend in 10—12 Passagen auf aktivem Serum kultiviert.

Diese Resultate bestätigen nicht die Angaben, die andere Experimentatoren auf Grund analoger Versuche, wie ich oben auseinander-

1) Semaine méd. 1893.
2) Baumgartens Jahresber. 1896.
3) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1897.
4) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1900.
5) Loco citato.
6) Centralbl. f. Bakt. 1904.

gesetzt habe, angegeben haben, und stehen in Widerspruch zu den Ergebnissen, die wir bei identischen, aber an anderen Mikroorganismen angestellten Versuchen gewonnen haben.

Wir müssen also annehmen entweder, daß der Milzbrandbacillus ein von den anderen verschiedenes Verhalten zeigt, oder daß tatsächlich zur Erzielung einer Virulenzsteigerung eine größere Anzahl von Passagen auf aktivem Serum erforderlich ist. Nach unserer Ansicht muß diese letzte Bedingung eingehender untersucht werden, da wir zur Erzielung einer Virulenzsteigerung bei den angepaßten Species 50 Passagen auf aktivem Serum ausgeführt haben.

Diese Erwägungen haben uns bestimmt, die Frage wieder aufzunehmen, sie eingehender zu studieren und zu untersuchen, einerseits, ob andere pathogene Bakterien außer den Milzbrandbacillen einer Anpassung an das Serum fähig waren, auf welche dann wahrscheinlich eine Virulenzsteigerung folgte, und andererseits wollten wir prüfen, ob nichtpathogene Bakterien der Bakteriolyse entgehen und auch eine ganz neue Eigenschaft, nämlich die Virulenz, erwerben könnten.

Versuchstechnik.

Wir haben Laboratoriumskulturen verwandt, die nicht die geringste Virulenz besaßen, und zwar Typhusbacillen, Staphylococcus aureus, Bacterium coli und Bac. prodigiosus.

Wir haben diese vier Typen vor allem deshalb ausgewählt, weil wir die Sporen vermeiden wollten, welche die neuen erworbenen Eigenschaften nicht auf die vegetativen Formen übertragen konnten; ein zweiter Grund bestand darin, daß zwei von ihnen, der Typhusbacillus und Staphylococcus, abgesehen von ihrer leichten Kultivierbarkeit auf den gebräuchlichen Nährböden, zu denjenigen Mikroorganismen gehören, bei denen sich die Wirkung des Blutserums sehr bemerkbar macht, während die anderen beiden, das Bact. coli und der Bac. prodigiosus, toxische Bacillen darstellen, die mehr zu den Saprophyten als zu den echten Parasiten des Menschen zu rechnen sind.

Das Blutserum wurde jeden Tag immer frisch mittels 15 Minuten dauernder Zentrifugierung aus dem Blute gewonnen, das in aseptischer Weise nach den allgemein bekannten Regeln entnommen war.

In bestimmten Serummengen wurden die Impfungen vorgenommen, und zwar immer mit einer und derselben Normalöse, und aus den so geimpften Röhrchen wurden zu verschiedenen Stunden Agarplatten zur Zählung der Kolonieen hergestellt.

Von derjenigen Platte, welche die kleinste Anzahl von Kolonieen zeigte, wurde zunächst in Bouillon und dann auf neues frisches Serum abgeimpft.

Die Kulturen waren also immer 24 Stunden alt. Durch mikroskopische und kulturelle Untersuchungen vergewisserten wir uns jedesmal ihrer Reinheit.

In jeder Versuchsreihe stellte man gleichzeitig Platten zur Kontrolle der Serumwirkung her; diese rührten von Impfungen nicht angepaßter Bakterien auf aktives Serum her.

Die Untersuchungsergebnisse wollen wir in der folgenden Tabelle zusammenfassen.

Wenn auch diese Angaben nur annähernd sind und man auch alles aufgeboten hatte, um immer eine Anzahl vergleichbarer Kolonieen zu haben, so geht doch, selbst wenn man einen gewissen unvermeidlichen

No.	Typhus: Un-mittelbar	$1/2$ Stunde	1 Stunde	3 Stunden	6 Stunden	24 Std.	Beobachtungen	Staphylococcus aureus: Un-mittelbar	$1/2$ Stunde	1 Stunde	3 Stunden	6 Stunden	24 Std.	Beobachtungen
1	398	406	168	—	6	0	Serum 1 ccm Isoton. Lös. 4 ccm	2745	7839	3015	—	∞	∞	Serum 1 ccm Isoton. Lös. 4 ccm
2	300	198	163	—	0	0	idem	2700	∞	∞	—	∞	∞	idem
3	1152	—	390	145	50	0	"	180	—	47	29	57	∞	Serum 2 ccm Isoton. Lös. 3 ccm
4	367	—	5	0	4	0	"	188	—	38	493	69	∞	idem
5	923	—	600	121	84	∞	"	800	—	80	4	25	∞	"
6	178	81	50	21	189	∞	Serum 2 ccm Isoton. Lös. 3 ccm	159	—	22	23	40	∞	"
7	2376	—	88	0	0	0	Serum 3 ccm Isoton. Lös. 2 ccm	190	—	30	2	1	∞	"
8	1000	—	218	0	0	0	idem	410	—	30	42	450	∞	"
9	1420	—	200	0	0	0	"	390	—	36	20	215	∞	"
10	1917	—	210	6	0	0	"	310	—	59	10	36	∞	Serum 3 ccm Isoton. Lös. 2 ccm
11	1230	—	848	1	0	0	"	500	—	26	5	30	∞	idem
12	2079	—	700	50	0	0	"	225	—	670	500	∞	∞	"
13	1800	—	900	2	11	0	"	172	—	199	∞	∞	∞	Serum 4 ccm Isoton. Lös. 1 ccm
14	1023	—	400	13	112	∞	"	61	—	1	12	0	0	idem
15	1750	—	600	5	15	∞	"	400	—	87	2835	∞	∞	Serum 5 ccm
16								80	—	29	76	120	∞	idem
17								20	—	12	62	∞	∞	"
18								180	—	70	83	600	∞	"
19								170	—	120	600	∞	∞	"
20								150	—	200	∞	∞	∞	"

No.	Bacterium coli: Un-mittelbar	$1/2$ Stunde	1 Stunde	3 Stunden	6 Stunden	24 Std.	Beobachtungen	Bacillus prodigiosus: Un-mittelbar	$1/2$ Stunde	1 Stunde	3 Stunden	6 Stunden	24 Std.	Beobachtungen
1	510	415	500	—	∞	∞	Serum 1 ccm Isoton. Lös. 4 ccm	1580	∞	∞	—	∞	∞	Serum 1 ccm Isoton. Lös. 4 ccm
2	1500	117	178	—	324	∞	idem	1687	2232	891	—	958	∞	Serum 2 ccm Isoton. Lös. 3 ccm
3	193	—	5	30	450	∞	Serum 3 ccm Isoton. Lös. 2 ccm	580	—	17	24	60	∞	Serum 3 ccm Isoton. Lös. 2 ccm
4	200	—	8	152	346	∞	idem	750	—	33	10	13	∞	idem
5	400	—	70	90	70	∞	"	670	—	30	400	∞	∞	"
6	160	—	4	64	130	∞	"	730	—	113	19	16	∞	"
7	160	—	2	125	720	∞	"	400	—	22	95	14	∞	"
8	200	—	112	500	463	∞	"	840	—	55	70	4	∞	"
9	170	—	25	63	500	∞	Serum 4 ccm Isoton. Lös. 1 ccm	106	—	3	5	320	∞	Serum 4 ccm Isoton. Lös. 1 ccm
10	800	—	18	154	∞	∞	idem	740	—	90	174	250	∞	idem
11	175	—	62	160	∞	∞	Serum 5 ccm	125	—	280	250	864	∞	"
12	576	—	1800	∞	∞	∞	idem	271	—	215	480	90	∞	Serum 5 ccm
13	140	—	102	∞	∞	∞	"	172	—	88	59	202	∞	idem
14	180	—	156	1170	1809	∞	"	120	—	70	182	100	∞	"
15	112	—	23	2880	∞	∞	"	240	—	50	134	1220	∞	"
16	380	—	380	∞	∞	∞	"	620	—	740	820	120	∞	"
17	250	—	600	∞	∞	∞	"	750	—	200	283	72	∞	"
18	300	—	500	∞	∞	∞	"	55	—	60	80	∞	∞	"
19	150	—	500	∞	∞	∞	"	80	—	150	500	∞	∞	"

Irrtum annimmt, deutlich hervor, daß bei den aufeinanderfolgenden Passagen die Bakterien sich immer mehr angepaßt haben, so daß sie sich schließlich gut in dem frischen Blutserum kultivieren ließen.

Wir wollen hier nicht die aus den einzelnen Kontrollversuchen mit nichtangepaßten Bakterien erhaltenen Resultate anführen, sondern es genügt hier zu sagen, daß die bakterizide Wirkung sich in ihrem Maximum entfaltete, und daß die Platten nach 3—6 Stunden 1—2 Kolonieen zeigten; die Typhusbacillen erwiesen sich hierbei weniger resistent, da sie schon nach 3 Stunden keine Entwickelung mehr zeigten.

Erwähnt sei noch die am Ende dieser Versuchsreihe gemachte Beobachtung, daß der Staphylococcus ebenso wie der Prodigiosus schon nach 24-stündiger Inkubation eine reichliche Bildung eines glänzenden Pigments zeigte.

Am Schlusse dieser Versuche wurde die Virulenz mittels Inokulation von Meerschweinchen[1]) geprüft:

(1 Oese einer 24 Stunden alten Agarkultur in 1 ccm destillierten Wassers.)

	Angepaßte	Nichtangepaßte
Typhus	† nach 3 Tagen	lebt
Staphyloc.	lebt	lebt
Bact. coli	† nach 4 „	† nach 8 Tagen
Prodigiosus	† „ 10 „	lebt

Wir begnügten uns nicht mit diesen Resultaten, sondern kultivierten während anderer 10 Tage die Bakterien, indem wir alle 24 Stunden Ueberimpfungen auf aktives Serum vornahmen.

(1 Oese einer 24 Stunden alten Agarkultur in 1 ccm destillierten Wassers.)

	Angepaßte	Nichtangepaßte
Typhus	† nach 3 Tagen	lebt
Staphyloc.	† „ 4 „	lebt
Bact. coli	† „ 24 Stunden	† nach 7 Tagen
Prodigiosus	† „ 24 „	lebt

Nach ungefähr 50 Passagen, die wir alle 24 Stunden auf aktivem Serum vornahmen, stieg die Virulenz für jede Species rasch auf $^1/_5$ Oese in wässeriger Verdünnung.

An dieser Stelle unserer Versuche erhob sich von selbst die Frage, ob die an das aktive Blutserum angepaßten Bakterien bei ihrer Verimpfung auf die Versuchstiere sich rasch im Blutkreislaufe verbreiten, ohne durch die bakteriolytische Wirkung beeinflußt zu werden. Zu diesem Zwecke wurden 2 Reihen von Meerschweinchen geimpft, und zwar die eine mit nicht angepaßten, die andere mit angepaßten Bacillen.

Jede Reihe bestand aus 24 Meerschweinchen (6 für jede Bakterienspecies), die intraperitoneal je mit $^1/_5$ Oese einer 24 Stunden alten Agarkultur von angepaßten und nicht angepaßten Bakterien geimpft wurden.

Die Meerschweinchen (1 für jede Species) wurden in verschiedenen Zwischenräumen getötet, d. h. nach 1, 2, 3, 4, 5, 10 und 24 Stunden. Immer erhielt man positive Kulturen aus dem Blute der mit angepaßten Species geimpften Tiere, während bei den mit nicht angepaßten Kulturen inokulierten Meerschweinchen die Resultate negativ ausfielen.

Ausgehend von der Tatsache, daß die Bakterien mittels Kaninchenblutserum angepaßt waren, versuchten wir die Inokulation bei den Kaninchen selbst, und zwar wurden auch in dieser Versuchsreihe für jeden einzelnen Versuch zwei Kaninchen von 800 g Durchschnittsgewicht verwandt.

1) Es wurden immer Meerschweinchen von 300 g Durchschnittsgewicht verwandt.



($^1/_5$ Normalöse einer 24 Stunden alten Agarkultur intraperitoneal verimpft.)

	Impfungen aus dem Herzblut									
	Angepaßte					Nichtangepaßte				
	Meerschweinchen getötet nach					Meerschweinchen getötet nach				
	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	24 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	24 Std.
Typhus	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Staphyloc.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Bact. coli	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Prodigiosus	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—

($^1/_5$ Normalöse einer 24 Stunden alten Agarkultur in 1 ccm destillierten Wassers.)

	Angepaßte		Nichtangepaßte	
	Endovenöse Inok.	Peritoneale Inok.	Endovenöse Inok.	Peritoneale Inok.
Typhus	† nach 8 Tagen	† nach 15 Tagen	lebt	lebt
Staphyloc.	† nach 48 Std.	† „ 6 „	† nach 10 Tagen	lebt
Bact. coli	† nach 7 Tagen	† „ 9 „	† „ 15 „	lebt
Prodigiosus	† nach 24 Std.	† „ 3 „	lebt	lebt

Mit diesen Versuchen war unsere Aufgabe erschöpft. Da wir uns aber erinnerten, daß andere Experimentatoren, wie z. B. Simoncini[1]), Bertarelli[2]) etc. die Vaccination der Meerschweinchen mit der Kultur oder den Nucleoproteiden des Prodigiosus versucht hatten, und da wir gerade eine virulente Prodigiosus-Kultur zur Verfügung hatten, so wollten wir sehen, ob es möglich war, in dieser Weise die Vaccination zu erzielen.

1. Serie. Zu diesem Zwecke nahmen wir 5 Meerschweinchen von 480 g Durchschnittsgewicht, welche in 10 Tagen im ganzen $^1/_2$ Oese einer 24 Stunden alten Agarkultur in 6 Injektionen erhielten (von dieser Kultur tötete $^1/_5$ Oese ein Meerschweinchen von 250 g in 24 Stunden).

Auf die Injektionen folgte eine Temperatursteigerung. Um den Vaccinationsversuch fortzusetzen, mußte man die Rückkehr zu den normalen Verhältnissen abwarten.

Nach der letzten Injektion starben alle Tiere.

2. Serie. 5 andere den vorhergehenden Meerschweinchen ähnliche wurden ebenso wie die der ersten Serie geimpft, aber mit Emulsionen von Kulturen in physiologischer Kochsalzlösung, die 15 Minuten lang bei 60° gehalten waren. Man erhielt dieselben Resultate.

3. Serie. 5 andere Meerschweinchen von 250—300 g Gewicht wurden in 20 Tagen mit subletalen Dosen einer virulenten Prodigiosus-Kultur geimpft; hierbei beobachtete man, daß das Serum dieser Meerschweinchen im allgemeinen in einer Dose von 1:20—1:30 agglutinierte; bei einem erhielt man eine Agglutination in der Verdünnung von 1:50. Ueberschritt man aber die kleinste tödliche Dosis (im Durchschnitte $^1/_5$ Oese), so trat der Tod der Tiere ein.

Aus allen diesen Versuchen gehen einige Schlußfolgerungen von größter Wichtigkeit hervor:

Vor allem zeigt sich, daß die in Rede stehenden Bakterien sich an das aktive Serum anzupassen vermögen, daß aber in der Zeit, welche sie zur Annahme dieser Eigenschaft brauchen, ihre Virulenz ein wenig erhöht wird. Leben sie in aktivem Serum weiter, so steigert sich ihre

1) Annali d'Igiene speriment. 1906.
2) Archivio per le Science mediche. 1903.



Virulenz stufenweise, und auch ganz saprophytische Bakterien, wie der Prodigiosus, können einen pathogenen Charakter erwerben.

Setzt man eine Verschiedenheit der aktiven bakteriolytischen Substanzen voraus und zieht man in Betracht, daß die an Kaninchenblutserum angepaßten Bacillen nicht allein auf die Kaninchen, sondern auch auf die Meerschweinchen pathogen wirken, so muß man annehmen, daß die Bakteriolysine dieser beiden Tierspecies nahe verwandt miteinander sind.

Die Bakterien, welche diese neuen Eigenschaften besitzen, verbreiten sich bei ihrer Verimpfung auf Versuchstiere rasch in dem Kreislaufe.

Wenn auch der Bacillus prodigiosus noch so tiefgreifende Veränderungen erlitten hat, so gelingt es doch nicht, sowohl mit dem virulent gemachten, als auch mit dem mittels Wärme getöteten Material eine Vaccination zu erzielen.

Palermo, Januar 1908.

Ueber Komplementbindung bei Immunisierung mit Corpus luteum.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abteilungsvorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann).]

Von Dr. **John Willoughby Miller.**

Auf Veranlassung von Geh.-Rat Wassermann habe ich seit Beginn des Jahres 1907 im Institut für Infektionskrankheiten Versuche über die Immunisierung mit Corpus luteum-Substanz angestellt, über die ich im folgenden berichten möchte.

Es galt festzustellen, ob die gelben Körper verschiedener Tiere eine im biologischen Sinne einheitliche Substanz darstellen, etwa in der Art, wie es nach den Untersuchungen von Uhlenhuth (1) bei der Linse der Fall ist, und ob es demzufolge möglich ist, ohne Rücksicht auf die Herkunft der Corpora lutea von dieser oder jener Tierart, also mit Durchbrechung des Gesetzes von der Artspezifität, einheitliche organspezifische Reaktionen auszulösen.

Eine solche Annahme schien von vornherein bei Berücksichtigung der von Born (2) und L. Fraenkel-Breslau (3) aufgestellten Theorie über die Funktion des Corpus luteum durchaus plausibel. Nach Fraenkel[1]) „ist das Corpus luteum als eine Drüse mit innerer Sekretion anzusehen, welche, immer von neuem im Ovarium sich bildend, dem Uterus in zyklischer Weise einen Ernährungsimpuls zuführt, vermöge dessen besonders seine Schleimhaut in einen Zustand erhöhter Hyperämie und Hyperplasie der Gewebselemente versetzt wird. Die nächste Folge ist Haftung eines befruchteten Eies, bei dessen Fehlen Ausscheidung der Menstruation. — Beim Kaninchen kennt man im allgemeinen den Termin eines fruchtbaren Coitus und — 7 Tage später — der Eieinbettung. Durch Exzision der Ovarien in dieser Zeit wurde

1) Die Lektüre der ausführlichen Arbeit Fraenkels, die eine Fülle von Gedanken, Anregungen und Beobachtungen enthält, kann ich nur dringend empfehlen. (Archiv für Gynäkologie. Bd. LXVIII. p. 438ff.)

erwiesen, daß die Insertion der befruchteten Eier an die Anwesenheit des Eierstockes gebunden ist. Weiterhin habe ich durch galvanokaustische Zerstörung der gelben Körper gezeigt, daß ohne sie die Nidation nicht zustande kommt, auch wenn das übrige Ovarium vollkommen intakt ist. — Die Erkenntnis der Bedeutung des gelben Körpers führte dazu, ein therapeutisches Präparat aus dem Corpus luteum der Kuh herzustellen, das mich bei Ausfallserscheinungen niemals im Stich gelassen hat."

Fraenkel hat dann in Gemeinschaft mit Lichtwitz jun. (4) Immunisierungsversuche mit dem gelben Körper unternommen und ausgesprochene Cytolyse erzielt, wenn er das von Kaninchen gewonnene Serum auf eine Luteinzellenaufschwemmung wirken ließ. Jedoch ist hierüber, abgesehen von einem kurzen Referat über einen diesbezüglichen Vortrag L., das er mir freundlichst übersandt hat, nichts veröffentlicht worden.

Meine Sera wurden dagegen mit Hilfe der Komplementbindungsmethode untersucht, deren Wesen und Technik ich jetzt wohl als bekannt voraussetzen darf.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen komme ich zur Sache selbst:

Zur Gewinnung von Corpus luteum-Substanz in größeren Mengen eignen sich besonders die Ovarien von Kühen und Schweinen. Aus den Eierstöcken von Schafen kann man naturgemäß nur viel weniger Material erzielen, da die Schafe unipar sind und der gelbe Körper nur eine geringe Größe erreicht, und andere Tiere kommen hier wohl kaum in Betracht.

Die Ovarien, die natürlich je nach ihrer Herkunft von der Kuh oder Sau getrennt zur Verarbeitung gelangten, wurden nachmittags auf dem Berliner Zentralviehhof eingesammelt, wiederholt in physiologischer, 0,85-proz. steriler Kochsalzlösung, der pro Liter 5 ccm reiner flüssiger Karbolsäure zugesetzt waren, gewaschen und über Nacht in einer ebensolchen $^1/_2$-proz. Karbolkochsalzlösung im Eisschrank aufbewahrt. Am folgenden Morgen wurden die gelben Körper mit sterilen Instrumenten herauspräpariert. Die kleinen, annähernd ockergelben Corpora lutea des Schweins, die ziemlich weich und frei von durchsetzenden Bindegewebszügen sind, wurden mit der Schere durchschnitten und die beiden Hälften dann von der umhüllenden Membran abgekratzt. Hierzu eignete sich besonders ein leicht zu improvisierendes Instrument: Eine neue Stahlfeder, die verkehrt in den Halter gesteckt und nach Art eines scharfen Löffels gebraucht wurde. Das große, schön goldgelbe Corpus luteum des Rindes läßt sich ziemlich leicht aus der Eierstocksubstanz herausschälen, wird jedoch von bindegewebigen Strängen durchsetzt und erscheint in eine feine Hülle eingekleidet, die sich nicht abziehen läßt. Mit großer Mühe und mit viel Zeitaufwand wurden diese bindegewebigen Bestandteile entfernt, die reingewonnenen Stückchen Lutein wiederholt gewaschen, um das aus den durchschnittenen Gefäßen austretende Blut zu entfernen, und sodann durch eine sterilisierte Hackmaschine geschickt. Das so vorbereitete Material wurde gewogen und dann noch in sterilem Mörser unter allmählichem Zusatz von Karbolkochsalzlösung zu einem möglichst homogenen Brei verrieben und zwar wurden mit je 10 g Substanz 20 ccm Flüssigkeit verrührt.

Diese Emulsion, die im Eisschrank wochenlang haltbar ist, wurde Kaninchen, Gänsen und Tauben intraperitoneal durch eine abgestumpfte Kanüle in großen Mengen injiziert. Besondere Sorgfalt legte ich —

wenigstens was die Kaninchen anbetrifft —, nachdem ich 2 Tiere an Bauchdeckenabszeß verloren hatte, auf ein möglichst aseptisches Vorgehen bei der Einspritzung: Entfernung der Haare, Abreiben der Bauchhaut mit Alkohol und mit Sublimat und Verschluß der Wunden durch Jodoformgazecollodiumverband. Gerade letzteres scheint mir nicht unwesentlich, da die Tiere nach der Einspritzung mit Vorliebe den Leib an den Boden pressen und da dadurch die Stichstelle nur zu leicht infiziert wird.

Ich will gleich hier bemerken, daß es mir überhaupt nicht gelungen ist, von meinen 4 behandelten Gänsen ein wirksames Serum zu erhalten und daß nur eine von 6 Tauben Immunkörper in mäßiger Menge gebildet hatte. Dagegen konnte ich von 3 unter meinen 9 Kaninchen ein brauchbares Serum gewinnen. 2 Tiere verlor ich, wie erwähnt, an Bauchdeckenabszeß, 2 starben am Tage nach der Injektion von je 30 ccm Emulsion in die Bauchhöhle, 1 starb sofort nach einer intravenösen Einspritzung und 1 fand ich tot im Stall auf, anscheinend das Opfer einer Bronchopneumonie.

Allerdings waren die zuerst versuchten Injektionen einiger Kubikzentimeter eines Corpus luteum-Extraktes in die Blutbahn sowie die intraperitonealen Einspritzungen von weniger als 10 ccm Emulsion gänzlich wirkungslos. Erst größere Mengen, die jedoch eine nicht unbeträchtliche Abmagerung der sonst aber durchaus munteren und freßlustigen Tiere hervorbrachten, lösten die erwartete Reaktion aus. Von 2 Gänsen mit annähernd gleichem Gewicht, die nach längerer Vorbehandlung gleichzeitig je 40 ccm derselben Emulsion erhalten hatten, starb die eine sofort, ohne daß bei der Sektion irgend eine Ursache nachweisbar gewesen wäre, während die andere den Eingriff ertrug.

Zwei bis drei Wochen nach der letzten Injektion wurde das Serum entnommen und nach der Komplementbindungsmethode gegen einen Extrakt von Corpus luteum als Antigen geprüft. Bei der üblichen Entnahme der Blutprobe ca. 10 Tage nach der letzten Einspritzung erhielt ich noch kein wirksames Serum, was sich sehr einfach dadurch erklärt, daß die große Menge des einverleibten, zum Teil ungelösten Materials erst allmählich resorbiert bezw. ausgelaugt werden muß.

Erwies sich das Serum der Blutprobe als brauchbar, so entblutete ich das Tier sofort und stellte das Blut in einem Meßcylinder auf oder in den Eisschrank, um die Ausscheidung des Serums vor sich gehen zu lassen. Am anderen Morgen wurde noch der Blutkuchen in die elektrische Zentrifuge gestellt, um den Rest des Serums herauszupressen, das ganze Serum völlig klar in Reagenzgläser gefüllt, sofort in der üblichen Weise im Wasserbad bei 56° inaktiviert und im Morgenrothschen Gefrierapparat „Frigo“ aufgehoben, in dem es schnell erstarrte.

Die Herstellung der Extrakte geschah so, daß das Lutein, nachdem es durch die Hackmaschine gegangen und gewogen war, mit Karbolkochsalzlösung im Verhältnis von 1 g zu 3 ccm versetzt und auf 3 × 24 Stunden in den Schüttelapparat gestellt wurde. Die nach Absetzen des Sediments dekantierte Flüssigkeit wurde mit mehreren Unterbrechungen ungefähr 72 Stunden zentrifugiert, bis sich kein Niederschlag mehr bildete. Eine solche Sedimentierung tritt übrigens noch ein, wenn der Extrakt schon längst absolut klar und durchsichtig ist.

Auf gleiche Weise wurden auch die zu Kontrollzwecken gebrauchten Extrakte von Lebern und Milzen sowie von entkapselten Nieren des Rindes oder des Schweines zubereitet. Sämtliche 8 Extrakte wurden im

Eisschrank aufbewahrt und vor jedem Versuch noch 1—2 Stunden zentrifugiert.

Als Komplement wurde, wie gewöhnlich, Serum eines normalen, am Tage des Versuchs entbluteten Meerschweinchens in der Verdünnung von 1:10 benutzt; es mußte aber auch schon in der halben Menge zur Lösung der roten Blutkörperchen genügen.

Letztere wurden aus defibriniertem Hammelblut gewonnen und nach dreimaligem Waschen in steriler physiologischer Kochsalzlösung in einer 5-proz. Aufschwemmung zur Anwendung gebracht.

„5-proz. Aufschwemmung" ist übrigens, wie auch J. Citron hervorhebt, eine recht ungenaue Bestimmung. Je länger man nämlich die Hammelerythrocyten in der Zentrifuge läßt, desto dichter wird der Niederschlag und desto größer natürlich die absolute Menge der mit der Pipette in 1 ccm aufgesaugten roten Blutzellen. Es empfiehlt sich daher, 1 ccm der Aufschwemmung vor ihrer Verwendung zur Probe im Reagenzglas mit 4 ccm Kochsalzlösung zu versetzen, die Intensität der Rotfärbung zu prüfen und eventuell noch mehr Erythrocyten hinzuzufügen. Zuweilen gibt erst eine 7-proz. Aufschwemmung die richtige Farbe.

Den hämolytischen Ambozeptor lieferte das auch im Frigo aufbewahrte Serum eines Kaninchens, das mit Hammelblutkörperchen vorbehandelt war; die gewählte Verdünnung enthielt die doppelt komplett lösende Dosis; wenn also der Titer des Serums 1:500 war, wurde es in einer Verdünnung von 1:250 gebraucht.

Die schließlich noch nötigen Normalsera von Kaninchen und Rind waren am Tage des Versuchs gewonnen und inaktiviert. — Leider war es mir nicht möglich, als Normalkaninchenserum auch noch ein vor Beginn der Behandlung dem Immuntier entnommenes Serum zu verwenden, da bei den zahlreichen, erst angestellten negativen Versuchen das erwähnte Serum schon ganz aufgebraucht worden war.

Zur Anstellung des Versuchs verdünnte ich die Extrakte und Sera im Verhältnis von 1:10 oder 1:20 mit Kochsalzlösung und füllte von dieser kaum gefärbten Flüssigkeit 0,5—2 ccm in die Röhrchen, deren Inhalt gleichmäßig auf 5 ccm gebracht wurde.

Es ist übrigens durchaus nicht nötig, sich sklavisch an die Vorschrift zu halten und das Gestell mit den Röhrchen genau 2 Stunden im Brutschrank zu lassen. Vielmehr ist der Augenblick geeignet, in dem sämtliche Kontrollen gelöst sind, und das ist bei Anwendung eines starken hämolytischen Systems oft schon nach $^3/_4$ Stunden der Fall.

Die Kontrolle im Röhrchen 25, die ich in den mir bis jetzt zu Gesicht gekommenen Protokollen stets vermißt habe, halte ich für durchaus nötig, um zu zeigen, daß das Hämolysin auch wirklich in der doppelt komplett lösenden Dosis angewandt wurde.

Ich gebe nunmehr das Protokoll eines am 23. Aug. 07 angestellten Versuches mit dem sehr wirksamen Serum des weiblichen Kaninchens „schwarzgrau, Rücken geschoren", das 2200 g wog. Ich hatte dem Tier

am 22. Febr. 07 3 ccm,
„ 6. März 07 25 „
„ 19. April 07 10 „
„ 1. Mai 07 10 „
„ 21. Mai 07 15 „

einer Kuh-Luteinemulsion intraperitoneal injiziert und es dann am 8. Juni 1907 entblutet. (Der große Sprung von 3 auf 25 ccm erklärt sich durch eine briefliche Mitteilung von Lichtwitz, daß nach seinen Erfahrungen

die Tiere eine so große Menge auf einmal vertragen. — Ich war bis dahin noch nicht über 10 ccm [bei einem anderen Tier] hinausgegangen.)

	Kuh-Luteinextrakt	Spezifisches Serum	Normales Kaninchenserum	Sau-Luteinextrakt	Rindernierenextrakt	Schweinenierenextrakt	Normales Rinderserum	Komplement		Hammelerythrocyten	Hämolyt. Ambozept.		Resultat
1.	0,05	0,1						0,1	1 Stunde Aufenthalt im Brutschrank bei 37°	0,05	0,004	ca. 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank bei 37°	absolute Hemmung
2.	0,05	0,05						„		„	„		große Kuppe
3.	0,05							„		„	„		komplette Lösung
4.	0,1							„		„	„		„ „
5.		0,05						„		„	„		„ „
6.		0,1						„		„	„		„ „
7.		0,2						„		„	„		„ „
8.	0,05		0,1					„		„	„		„ „
9.	0,05		0,05					„		„	„		„ „
10.		0,1		0,05				„		„	„		„ „
11.		0,05		0,05				„		„	„		„ „
12.		0,1			0,05			„		„	„		absolute Hemmung
13.		0,05			0,05			„		„	„		Kuppe
14.					0,05			„		„	„		komplette Lösung
15.					0,1			„		„	„		„ „
16.			0,1		0,05			„		„	„		„ „
17.			0,05		0,05			„		„	„		„ „
18.		0,1				0,05		„		„	„		„ „
19.		0,05				0,05		„		„	„		„ „
20.		0,1					0,05	„		„	„		„ „
21.		0,05					0,05	„		„	„		„ „
22.								„		„	„		„ „
23.								0,05		„	„		„ „
24.								—		„	„		absolute Hemmung
25.								0,1		„	0,002		komplette Lösung
26.								0,1		„	—		absolute Hemmung
27.								—		„	—		„ „

Bei Verwendung von Leberextrakten erhielt ich dieselben Resultate; der Rindermilzextrakt änderte den Ausfall des Versuches ein wenig insofern, als das der No. 13 entsprechende Röhrchen (0,05 spezifisches Serum + 0,05 Rindermilzextrakt) eine etwas **größere** Kuppe aufwies als das Röhrchen No. 2 (0,05 spezifisches Serum + 0,05 Kuh-Luteinextrakt).

Ich halte es demzufolge nicht für richtig, aus den Differenzen in der Größe der Kuppe irgendwelche Schlüsse zu ziehen.

Von einer Wiedergabe des betreffenden Protokolls sowie der Protokolle über Versuche mit Schweine-Luteinseris sehe ich, um Wiederholungen und Weitläufigkeiten zu vermeiden, ab.

Das Resultat der mitgeteilten Versuche läßt sich nun in folgende Sätze zusammenfassen:

1. **Das nach Immunisierung mit Corpus luteus-Substanz gewonnene Serum hemmt die Hämolyse**
   a) **in Verbindung mit dem homologen Luteinextrakt,**
   b) **mit den Extrakten anderer Organe derselben Tierart.**
2. **Es hemmt nicht in Verbindung mit dem Serum der gleichen Tierspecies.**
3. **Es hemmt nicht**
   a) **in Verbindung mit dem Luteinextrakt einer anderen Tiergattung,**
   b) **mit den Extrakten fremder Organe.**

Es handelt sich also um eine einfache Immunisierung mit Organzellen einer Tierart — die als solche allerdings streng spezifisch ist — nicht um die Immunisierung mit Eiweißsubstanzen schlechthin, wie aus Satz 2 hervorgeht. Es ist weder eine spezifische Immunisierung mit Corpus luteum zu erzielen, noch ein spezifisches Sekretionsprodukt des genannten Organs auf dem Wege der Komplementbindung nachzuweisen. Ich halte es jedoch nicht für ganz ausgeschlossen — wenn auch für höchst unwahrscheinlich — daß sich ein noch höherer Grad von Immunität erreichen läßt und daß ein Serum zu gewinnen ist, daß in kleinsten Mengen allein mit Luteinextrakt und nicht mit anderen Organextrakten hemmt. Zu berücksichtigen bleibt bei dahin zielenden Versuchen jedoch noch, daß man durch parenterale Einverleibung von heterologen Eiweißsubstanzen nicht beliebige Steigerung der Eiweißimmunität erzielen kann, sondern daß der Gehalt des Serums an Antikörpern bei fortgesetzter Injektion zur Norm zurückgeht.

Im übrigen wäre der Versuch, wenn er auch in der angedeuteten Weise positiv ausfiele, nicht für eine spezifische Sekretion beweisend. Es müßte vielmehr dieses Antixanthinserum[1]) mit dem Serum eines frisch geschwängerten Tieres die Hämolyse hemmen (da letzteres Serum der Born-Fraenkelschen Theorie zufolge Corpus luteum-Säfte enthalten müßte), denn in diesem Falle träfen Antikörper und Antigen zusammen. Bei meinen Versuchen mit dem Immunserum und den Seris von tragenden Kühen und Schweinen habe ich nie eine Hemmung konstatieren können. Allerdings war die Gravidität der betreffenden Tiere schon so weit vorgeschritten, daß sie vom Schlächter vorher diagnostiziert werden konnte, und zu dieser Zeit ist das Serum vielleicht frei von Goldkörpersekreten.

Wohl zu berücksichtigen ist auch folgender Punkt: Nach Fraenkels Annahme führt der Saft des Corpus luteum auch — wie bereits eingangs erwähnt — die Menstruation herbei. Ist diese Anschauung richtig, so müßte ein Antixanthinserum, das nach Injektion von menschlichem Material gewonnen, auch beim Zusammentreffen mit dem Serum einer menstruierenden oder vielmehr ovulierenden Frau die Hämolyse hindern. Man würde also beim Ausbleiben der Blutzelllösung ebensogut „Gravidität" wie „Status ante menstruationem" diagnostizieren können, falls nicht etwa augenfällige quantitative Differenzen im Antigengehalt des untersuchten Blutes nachweisbar sind.

Die mitgeteilten Versuchsresultate enthalten also keinerlei Stütze für die Fraenkelsche Auffassung; im Gegenteil muß man aus der mangelnden Bildung spezifischer Antikörper auch auf das Fehlen eines spezifischen Antigens schließen. Die Diagnose der Schwangerschaft, die Konzeptionsverhinderung und die Einleitung eines Abortes bezw. einer Frühgeburt auf biologischem Wege mit Hilfe des Corpus luteum liegt also noch in weitem Felde.

Zum Schluß noch die Bemerkung, daß ich beim Zusammenbringen von Immunserum mit homologem Extrakt nie eine Spur von Präzipitation gesehen habe. Cytolytische Versuche habe ich nicht angestellt.

Die von Fraenkel und Lichtwitz angegebene hämolytische Wirkung des Immunserums, die auch Skrobansky (5) fand, kann ich — wenigstens für Hammelblutkörperchen — bestätigen. Jedoch nahm

1) Ich möchte das hybride Wort „Antilutein" vermeiden und nehme deshalb das entsprechende griechische Wort. Aus demselben Grunde schlage ich auch vor, das wohl von Fraenkel geprägte Wort „Luteolyse" durch „Xantholyse" zu ersetzen.

die blutzelllösende Wirkung meines Serums schnell ab, so daß es jetzt keine Spur mehr davon zeigt.

Der eben genannte russische Autor, der, wie ich noch bemerken möchte, teils mit der ganzen Substanz des Ovariums, teils mit dem Goldkörper der Kuh allein immunisierte, prüfte außer der hämolytischen Kraft seines Serums noch seine Wirksamkeit auf die Beweglichkeit der Spermatozoen der Tierart, die auch die zum Versuch verwandten Ovarien geliefert hatte. Er fand, daß das vom Kaninchen nach Einverleibung von Corpus luteum der Kuh gewonnene Serum außer der teilweisen Auflösung der homologen roten Blutzellen noch eine die Beweglichkeit der Stierspermatozoen begünstigende Wirkung entfaltete.

Herrn Geheimrat Prof. Wassermann spreche ich für die Anregung und die Unterstützung bei der Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus. Auch möchte ich nicht verfehlen, den Herren L. Fraenkel und Lichtwitz für ihr liebenswürdiges Entgegenkommen in Hinsicht auf die Mitteilung ihrer Versuche aufrichtig zu danken.

Literatur.

1) Uhlenhuth, Zur Frage der Leistungsfähigkeit des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. (Festschrift zum 60. Geburtstag von Robert Koch.) Jena (Gustav Fischer) 1904 und Vortrag in der Sitzung des medizinischen Vereins in Greifswald am 27. Febr. 1904. (Ref. in der Dtsch. med. Wochenschr. 1904. No. 24. Vereinsbeilage. p. 901.)
2) Fraenkel, L., Die Funktion des Corpus luteum. (Arch. f. Gynäkol. Bd. LXVIII. p. 438—545.)
3) —, Weitere Mitteilungen über die Funktion des Corpus luteum. Vortrag in der geburtshilflich-gynäkologischen Gesellschaft in Wien am 15. Dez. 1903. (Centralbl. f. Gynäkol. 1904. No. 19. p. 621 ff. und No. 20. p. 657 ff.)
4) Lichtwitz, Ueber Immunisierung mit Corpus luteum. Vortrag in der medizinischen Sektion der Schlesischen Gesellschaft für vaterländische Kultur in Breslau. Sitzung am 19. Febr. 1904. (Ref. Dtsch. med. Wochenschr. 1904. Vereinsbeilage. p. 683.)
5) Skrobansky, Beitrag zur Immunisierung mit Eierstock. (Münch. med. Wochenschrift. 1903. No. 44. p. 1913 ff.)

In Bezug auf weitere Literaturangaben verweise ich auf die unter 2 angeführte Arbeit Fraenkels, die deren 100 enthält.

Ueber die Verwendung verschiedener Zuckernährböden zur Differentialdiagnose der Gonokokken.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. (Direktor: Geh. Ob.-Med.-Rat Dr. Gaffky. Abteilungsvorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Frosch.)]

Von Stabsarzt Dr. **Rothe**, kommandiert zum Institut.

Das epidemische Auftreten der übertragbaren Genickstarre in den letzten Jahren hat eine große Zahl von Arbeiten veranlaßt, die der Erforschung dieser Infektionskrankheit galten und als deren praktisch wichtigstes Ergebnis wohl die Sicherstellung der ätiologischen Bedeutung des Weichselbaumschen Meningococcus angesprochen werden darf. Die eingehenden Studien, welche speziell seiner Erkennung und der Unterscheidung von anderen ihm ähnlichen Mikroorganismen ge-

widmet waren, führten zu der Erkenntnis, daß die letzteren weit zahlreicher sind und häufiger vorkommen, als bisher angenommen wurde; zugleich sind aber auch Mittel und Wege gefunden worden, die Meningokokken von allen übrigen Arten gramnegativer Diplokokken sicher zu trennen. Wenn von den morphologischen, färberischen und kulturellen Eigenschaften abgesehen wird, sind es vornehmlich zwei Methoden, welche eine Differenzierung der zur Gruppe der gramnegativen Diplokokken gehörigen Arten ermöglichen, und zwar einmal die Agglutinationsprüfung mit spezifischen Sera und andererseits die kulturelle Prüfung auf den durch v. Lingelsheim[1]) angegebenen Zuckerlackmusnährböden, welche das Gärungsvermögen des untersuchten Bakterienstammes gegenüber verschiedenen Zuckerarten erkennen lassen. Gerade das letztere Verfahren gewinnt gegenüber der Agglutinationsprüfung an praktischer Bedeutung, wenn man die Schwierigkeiten berücksichtigt, welche durch die auch bei dieser Bakteriengruppe beobachtete Gruppenagglutination und durch das Vorkommen schwer agglutinabler Meningokokkenstämme entstehen, ganz abgesehen davon, daß nicht jederzeit und allerorten genügend hochwertige Immunsera zur Verfügung stehen werden.

Nach v. Lingelsheim werden die Zuckerlackmusnährböden derart hergestellt, daß zunächst 10-proz. Lösungen der betreffenden Zuckerarten in Kubel-Tiemannscher Lackmuslösung (Kahlbaumsches Präparat) in Reagenzgläser zu 10 ccm abgefüllt und 2 Minuten lang behufs Sterilisierung im Wasserbade auf 100° erhitzt werden; nach dem Abkühlen werden zu je 10 ccm 0,5 ccm Normalsodalösung zugesetzt; 1,5 ccm dieser Zuckerlackmuslösung werden zu 13,5 ccm einer flüssigen Mischung von 3 Teilen 3-proz. Nähragars und 1 Teil Ascitesflüssigkeit gefügt, worauf das Ganze in eine Petri-Schale ausgegossen wird. Nach dem Erstarren wird der Nährboden mit einer starken Oese der zu prüfenden Kultur im Strich beimpft. Rotfärbung nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank beweist die eingetretene Vergärung.

Bei dieser Versuchsanordnung zeigen Meningokokken konstante Vergärung nur gegenüber Dextrose und Maltose, während von den anderen gramnegativen Diplokokken, soweit sie im Nasenrachenraum gefunden werden, der Micrococcus catarrhalis und Micrococcus cinereus keine der genannten und sonst noch geprüften Zuckerarten angreifen, dagegen mehrere Arten des Diplococcus flavus außer Dextrose und Maltose auch Laevulose konstant vergären; der Diplococcus pharyngis flavus III (v. Lingelsheim) verhält sich nach diesem Autor entweder wie der Micrococcus catarrhalis oder läßt Andeutungen von Vergärung gegenüber Dextrose und Maltose erkennen. Da sich die Differentialdiagnose am häufigsten mit der Unterscheidung der Meningokokken von den in den oberen Luftwegen und ihren Absonderungen vorkommenden gramnegativen Diplokokken zu beschäftigen hat, so erklärt es sich, daß die Nachprüfungen der v. Lingelsheimschen Methode, deren Ergebnisse auch in unserem Institute von allen Untersuchern bestätigt werden konnten, sich speziell und, so weit mir bekannt, allein in dieser Richtung bewegten. Im folgenden soll nun gezeigt werden, daß auch die Gonokokken durchaus sicher mit Hilfe von Zuckerlackmusnährböden von den Meningokokken zu unterscheiden sind, was um so wichtiger ist, als gerade für diese beiden morphologisch so sehr ähnlichen Diplokokkenarten auch

1) Klin. Jahrb. 1906. Bd. XV. p. 410.

eine nahe Verwandtschaft durch gegenseitige Mitbeeinflussung seitens spezifischer Sera festgestellt worden ist (Bruckner und Christéanu[1]), Ruppel[2]), Vannod[3]).

Fälle, in denen nach dieser Richtung differentialdiagnostische Prüfungen erforderlich werden, sind gewiß selten. Es muß aber als feststehend angesehen werden, daß sowohl Meningokokken wie Gonokokken durch Metastase oder Allgemeininfektion gelegentlich in andere Organe von dem Orte gelangen, wo sich eigentlich ihre pathogene Wirkung abspielt. Für unsere Betrachtung kommen hier nur in Betracht einerseits die bisher beobachteten Fälle von übertragbarer Genickstarre mit Komplikationen von seiten des Genitaltraktus (Epididymitis, eitrige Periorchitis, Spermatocystitis) und andererseits die Fälle von Beteiligung des Zentralnervensystems und seiner Häute an einer gonorrhoischen Allgemeininfektion. Schließlich ist noch an Krankheitsfälle zu denken, in denen nebeneinander gleichzeitig Meningitis contagiosa und Gonorrhoë bestehen. Tritt hier sekundär eine Polyarthritis, Endocarditis oder Pericarditis ein, so kann die Differentialdiagnose zwischen Gonokokken und Meningokokken erforderlich werden. Jedem sicheren und einfachen Unterscheidungsverfahren wird in solchen Fällen eine nicht unwesentliche praktische Bedeutung zukommen. Ein hierher gehöriger Fall aus neuerer Zeit ist von Pick[4]) beschrieben worden. Es handelte sich um eine Kombination von Meningitis cerebrospinalis contagiosa mit Spermatocystitis meningococcica. Sowohl aus dem Eiter der Samenbläschen wie aus der eitrigen Lumbalpunktionsflüssigkeit wurden echte Meningokokken gezüchtet, deren Identifizierung außer durch den Autor selbst auch in unserem Institute durch Kutscher mit allen verfügbaren Mitteln erfolgte. Als die betreffenden Kulturen dem Institut vor etwa Jahresfrist zur Untersuchung zugingen, war gerade von mir das konstante Verhalten der Gonokokken auf dem v. Lingelsheimschen Zuckerlackmusascitesagar festgestellt worden, wie es in der folgenden Tabelle im Vergleich mit den wichtigsten anderen gramnegativen Diplokokkenstämmen dargestellt ist. Schon allein durch dieses Verfahren konnte damals in einwandfreier Weise die Möglichkeit, daß es sich bei der aus dem Samenbläschenempyem gewonnenen Kultur um Gonokokken handeln könnte, ausgeschlossen werden, da diese Kultur ebenso wie die aus dem Lumbalsekret und wie alle bis dahin geprüften echten Meningokokkenstämme Maltose und Dextrose zu vergären imstande war, während sämtliche von mir geprüften Gonokokkenstämme (6) ohne Ausnahme der Maltose gegenüber unwirksam waren[5]). S. Tabelle p. 648.

Die beiden wichtigsten Repräsentanten aus der Gruppe der gramnegativen Diplokokken unterscheiden sich somit auf dem Zuckerlackmusascitesagar dadurch, daß Gonokokken nur Dextrose, Meningokokken dagegen Dextrose und Maltose vergären.

Der Maltoselackmusnährboden nach v. Lingelsheim

---

1) Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1906. 1. Teil. p. 846, 907, 1070.
2) Deutsche med. Wochenschr. 1906, No. 16.
3) Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 49.
4) Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 30 u. 31.
5) In jüngster Zeit hat Kutscher, wie ich hier mitteilen darf, in unserem Institut an 25 frisch gezüchteten Gonokokkenstämmen die Reaktion erneut geprüft und ebenfalls ihre absolute Zuverlässigkeit und Deutlichkeit festgestellt.

ermöglicht hiernach eine sichere und zugleich praktisch einfache Unterscheidung der Gonokokken von den Meningokokken.

Bezeichnung der Diplokokkenart	Gärungsvermögen gegenüber		
	Dextrose	Laevulose	Maltose
Gonococcus	+	—	—
Meningococcus	+	—	+
Diplococcus flavus	+	+	+
Diplococcus phar. flavus III (v. Lingelsheim)	±	—	±
Micrococcus catarrhalis	—	—	—
Micrococcus cinereus	—	—	—

\+ Vergärung.
± Andeutung von Vergärung.
— Keine Vergärung.

An Stelle der v. Lingelsheimschen Nährböden kann auch das von mir[1]) zur Differenzierung der Diphtheriebacillen gegenüber den Pseudodiphtheriebacillen empfohlene Zuckerlackmusserum mit dem gleichen Ergebnis verwendet werden.

Eine einfache und dauerhafte Saugpipette zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten.

[Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft, Bromberg, Abteilung für Pflanzenkrankheiten.]

Von Dr. **Max Wolff.**

Mit 1 Figur im Text.

Es ist an dieser Stelle wohl kaum nötig, über die Mängel der in den meisten Laboratorien gebräuchlichsten Tropf- oder Saugpipetten viele Worte zu verlieren. Jeder Leser, der mit den Gummikappenpipetten arbeitet, hat Gelegenheit, sich alle paar Monate von neuem über diese Dinge zu ärgern: gerade, wenn es sich um eine recht eilige Arbeit handelt, bei der jede unerwartete Störung besonders verdrießlich ist, stellt es sich heraus, daß der oft (am meisten in trockener Laboratoriumsluft) sehr schnell brüchig werdende Kappengummi einen durchgehenden Riß bekommen hat. Die Pipette versagt.

Die Folge hiervon ist, daß in vielen Laboratorien sehr sparsam mit solchen Gummipipetten gewirtschaftet wird, ein Umstand, der den Arbeiten, besonders ihrer Sauberkeit, zu der der Anfänger nicht genug erzogen werden kann, wenig förderlich ist. Anstatt daß für alle bei einer Präparation Verwendung findenden Farbflotten, Differenzierungs-, Wasch-, Entwässerungs- und Einschlußmittel besondere saubere Pipetten vorhanden sind, muß eine einzige, vielleicht der Rest einer ehedem beschafften stattlichen Zahl, zu allem herhalten. Wenn dann der Arbeitende nicht peinlich die Pipette vor jeder weiteren Verwendung immer wieder

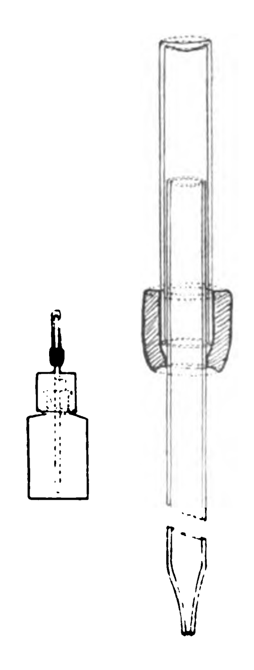
1) Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. XLIV. Heft 6. p. 618ff.

säubert — was natürlich viel Zeit kostet — so ist die größte Unsauberkeit der Präparation die übele Folge.

Die Mittel aber, die zur Konservierung des Gummis empfohlen werden, lassen uns im Stich. Teils ist ihre Wirkung eine ganz ungenügende, teils sind sie bei den betreffenden Färbeutensilien (Farbflaschensätze z. B., die sich doch nicht in einer ständigen Benzinatmosphäre halten lassen) nicht anwendbar.

Und doch bieten auf der anderen Seite die Saugpipetten so erhebliche Vorteile vor den einfachen, oben offenen Pipetten (die durch Verschluß mit der Fingerkuppe betätigt werden), daß man nur sehr ungern zu Modellen, wie sie z. B. im Berliner hygienischen Institut gebräuchlich sind, greifen wird. Bei den von diesem Institut angegebenen Farbflaschen mit einfacher Pipette ist man zwar nicht mehr von dem launenhaften Gummi abhängig. Dafür fand ich aber die Pipetten wegen ihrer Länge höchst unhandlich. Gut zu gebrauchen sind sie auch nur, wenn der Kork nicht allzu fest sitzt. Dann aber ist der Inhalt der Flasche noch mehr dem Verdunsten und der Gefahr der Verunreinigung durch Staub ausgesetzt, die ohnehin schon wegen der oben offenen Pipettenröhre besteht.

Ich möchte nun im folgenden eine sehr einfache Saugpipette beschreiben, die sich jeder leicht selbst anfertigen kann. Sie ist von fast unbegrenzter Haltbarkeit, weil der Gummiring, den ich zum Abdichten verwende, keine nennenswerten Formveränderungen beim Gebrauche erleidet, wie das bei der Gummikappe der Fall ist. Außerdem entspricht sie den höchsten Anforderungen in Bezug auf Sauberkeit, ist auch geeignet für spezielle bakteriologische Zwecke. Bringt man sie auf Farbflaschen etc. an, so ist deren Inhalt gegen Verdunsten und Verunreinigung sicher geschützt.



Ich stelle mir die Pipette (vergl. die Figur) in folgender Weise her: Das eigentliche, 5 mm starke Pipettenrohr, das 4 mm im Lichten mißt, wird in bekannter Weise mit Spitze versehen. Der Sauger besteht aus einem kleinen Präparatencylinder von der Art, wie sie in allen zoologischen Laboratorien gebraucht werden, um kleine, fertig fixierte Objekte (Entwickelungsstadien etc.) in größeren Materialgefäßen bis zur weiteren Verarbeitung aufzubewahren. Aehnliche Cylinderchen, die allerdings meist etwas kürzer, als die von mir verwandten sind, gebrauchen die Entomologen als sogenannte Minutiengläschen. Für meinen Zweck sind sie in folgender Größe am passendsten: Stärke 6,5 mm, im Lichten 5,5 mm, Länge 40 mm. Ueber das Oeffnungsende eines solchen Cylinderchens ziehe ich ein Stückchen Gummischlauch. Sehr geeignet ist roter, guter Gummi. Das Stück ist 1 cm lang, hat 2 mm Wandstärke und im Lichten eine Weite von 4 mm. Der Schlauch ist also enger, als das Pipettenrohr dick ist. Ich ziehe ihn nun etwa zu 7—8 mm über das Cylinderchen, so daß also ein etwa 2—3 mm langes Ende überragt. Dieses wird aber durch die 6,5 mm dicke Oeffnung des Cylinderchens so stark gespannt, daß seine lichte Weite (ungespannt 4 mm) nur wenig unter 5 mm liegt. Das Cylinderchen kann also ohne Mühe auf das Pipettenrohr

mit seiner Gummimündung, die sich dem Rohr luftdicht anschmiegt, geschoben werden. Es gleitet leicht auf dem Rohre hin und her. Nur beim Einschieben des Pipettenrohres würde sich meistens der Gummi etwas stemmen. Wenn das Cylinderchen weiter ist, als angegeben wurde (was natürlich angeht, wenn sich der Gummi dann noch aufziehen läßt), könnte er sich dabei auch wohl umkrempen. Daß wird durch einen Tropfen von Paraffinum liquidum, Glycerin oder etwas ähnlichem zum Schmieren Brauchbarem verhindert. Auch Vaseline ist sehr geeignet. Nunmehr läßt sich der Cylinder in beiden Richtungen vollständig gleichmäßig und spielend leicht auf dem Pipettenrohr hin und her bewegen. Dabei ist der Verschluß ein so vollkommen hermetischer, daß das Cylinderchen von dem atmosphärischen Druck fast genau an die alte Stelle getrieben wird, wenn man die Pipettenmündung mit dem Finger verschließt, den Saugcylinder nach hinten zieht und darauf freigibt. Hat man Schläuche von anderer Dehnbarkeit, so macht das nichts aus, weil man die Dichtung des Cylinders außerordentlich fein regulieren kann, indem man ein längeres oder kürzeres Ende des Gummis über die Cylinderöffnung hinaus vorstehen läßt. Nur zu dünnwandig darf der Gummischlauch nicht sein, vor allem, wenn das Cylinderchen beträchtlich weiter ist als das Pipettenrohr, weil er sich sonst umkrempen könnte.

Ich glaube, eine idealere Pipette, von größerer Präzision bei der Handhabung, läßt sich nicht angeben. Die Flüssigkeitsabgabe hat man vollkommen sicher in der Hand. Steht der Saugcylinder, so steht auch der flüssige Inhalt der Pipette. Das ist, finde ich, sehr bequem beim Arbeiten, weil die Flüssigkeit niemals so sicher „fixiert" wird, wenn man mit dem alten Gummihäutchen oder -Bällchen arbeitet. Hier veranlaßt eine geringfügige Innervation der haltenden Finger ein Zurücktreten der Flüssigkeit (an Stelle des nächsten Tropfens erhält man dann oft erst eine spritzende Blase) oder ein unbeabsichtigtes Austreten.

Wie schon erwähnt, ist die Haltbarkeit der Pipette eine ganz außerordentliche. Die Kosten sind, im Vergleich zu denen der so sehr vergänglichen Gummihütchenpipetten, gleich Null. Man kann also alle Flaschen mit Farblösungen und sonstigen Reagentien, die man tropfenweise verwendet, mit solchen Pipetten versehen. Ist die Stopfendurchbohrung, durch die man das Pipettenrohr führt, passend gewählt, so ist die Flasche so hermetisch verschlossen, als man es nur wünschen kann. Das ärgerliche Blindwerden vernickelter Gerätschaften, die in der Nähe von Flaschensätzen (die wirksame Säuren etc. enthalten) mit den offenen Pipetten des Berliner Modells stehen, wird gänzlich vermieden.

Endlich sei noch erwähnt, daß sich keine Saugpipette während des Aufsaugens und während der Abgabe der Flüssigkeit sicherer dirigieren läßt, wie die beschriebene. Während man das Pipettenrohr fest mit den übrigen Fingern hält, lassen sich beide Manipulationen mit dem leicht an den Gummiring angegelegten Zeigefinger vollkommen bewirken und beherrschen. So wird das einfache Gerät für manche Spezialzwecke der Mikrobiologie (Abfangen sehr kleiner Objekte z. B.), dann aber auch für den Arzt oft recht brauchbar sein.

Die Flüssigkeitsmenge, die bei einem Anhub des Saugcylinders aufgenommen wird, ist bei Verwendung eines Pipettenrohres von der oben angegebenen Stärke und eines Cylinderchens von 4 cm Länge gleich 0,75 ccm, also eher größer, als die Leistung einer gewöhnlichen Gummihütchenpipette von ähnlichem Format.

Daß sich die Leistung erheblich steigern läßt, wenn man den Saugcylinder länger wählt, brauche ich hier wohl nicht auseinanderzusetzen.

Hat man einen geübten Glasbläser an der Hand, so würde ich empfehlen, einen kappenartigen Schutz für die Flaschenöffnung und den Stopfen an das Pipettenrohr anblasen zu lassen, wie ihn die Figur zeigt. Ein solcher läßt sich natürlich auch mit einem Stück weiten Glasrohres und einem Korkstopfen improvisieren. Auf diese Weise sichert man sich, daß auf seltener benützten Flaschen gerade im Bereiche ihrer Oeffnung kein Staub abgelagert wird, der beim Nachfüllen oder beim Aufsetzen des Stopfens den Inhalt verunreinigen könnte.

Besonders die Zentralheizung in modernen Laboratorien begünstigt die Staubbildung so außerordentlich, daß ein solcher Staubschutz oft sehr am Platze sein dürfte.

Die Fabrikation und den Vertrieb der Pipette hat die Firma E. Leitz, Wetzlar-Berlin, übernommen.

Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose.

Berlin W., Eichhornstraße 9, 9. Januar 1908.

Ein **Internationaler Tuberkulosekongreß** findet in der Zeit vom 21. September bis 12. Oktober d. Js. in **Washington** statt. Die erste und letzte Woche sind für Besichtigungsreisen in Amerika bestimmt. Die mittlere, vom 28. September bis 3. Oktober, ist den wissenschaftlichen Verhandlungen in Washington gewidmet.

Die Organisierung des Kongresses leitet der Amerikanische Nationalverband zur Erforschung und Verhütung der Tuberkulose, der einen besonderen Ausschuß eingesetzt hat. Vorsitzender desselben ist Dr. Lawrence F. Flick in Philadelphia, Generalsekretär Dr. John S. Fulton in Washington.

Die Arbeiten des Kongresses sollen in 7 Sektionen erledigt werden:

Pathologie und Bakteriologie, Vorsitzender Dr. William H. Welch-Baltimore;

Klinische Forschungen und Tuberkulose — Therapie — Sanatorien — Spitäler und Armen-Polikliniken, Vorsitzender Dr. Vincent Y. Bowditch-Boston;

Chirurgie und Orthopädie, Vorsitzender Dr. Charles H. Mayo-Rochester, Minn.;

Tuberkulose bei Kindern — Aetiologie, Verhütung und Behandlung, Vorsitzender Dr. Abraham Jacobi-New York;

Erscheinung der Tuberkulose vom hygienischen, sozialen, gewerblichen und wirtschaftlichen Standpunkt aus, Vorsitzender Edward T. Devine-New York;

Oberaufsicht der Staaten und Munizipalbehörden über die Tuberkulose, Vorsitzender Surgeon-General Walter Wyman-Washington D. C.;

Die Tuberkulose bei Tieren und deren Beziehungen zum Menschen, Vorsitzender Dr. Leonard Pearson-Philadelphia.

Während der Zeit vom 21. September bis 12. Oktober wird zugleich eine Ausstellung veranstaltet werden, für welche Denkmünzen, Diplome und Geldprämien in Aussicht genommen sind.

Die Vorbereitung für Deutschland hat das Deutsche Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose übernommen, welches hierfür, im Einverständnis mit der Kongreßleitung, eine vorläufige Kommission ernannt hat. Derselben gehören an die Herren: Wirkl. Geheimer Rat Prof. Dr. E. von Leyden, Exzellenz-Berlin; Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. Orth-Berlin; Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. B. Fränkel-Berlin; Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. A. Baginsky-Berlin und der Generalsekretär des Zentralkomitees Prof. Dr. Nietner-Berlin.

Der Generalsekretär gibt in der Geschäftsstelle des Komitees, W. 9, Eichhornstraße 9, jede auf den Kongreß bezügliche Auskunft. Die bisher ausgegebenen Prospekte sind dort für Interessenten erhältlich.

Der Generalsekretär
Prof. Dr. **Nietner.**

Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose.

Berlin W., Eichhornstraße 9, 11. Februar 1908.

Während des Internationalen Tuberkulosekongresses in Washington (21. September bis 12. Oktober d. Js.) soll gleichzeitig eine große Tuberkuloseausstellung veranstaltet werden, welche ein anschauliches Bild des Standes und der Erfolge der Tuberkulosebekämpfung in allen zivilisierten Ländern geben soll. Wer geneigt ist, sich an der Ausstellung zu beteiligen, wird gebeten, sich mit dem Generalsekretär des Deutschen Zentralkomites zur Bekämpfung der Tuberkulose, Herrn Prof. Dr. Nietner, W. 9, Eichhornstraße 9, in Verbindung zu setzen.

Berichtigung.

In der zweiten Mitteilung von Dr. Adolf Lutz und Dr. Alfonso Splendore (dieses Centralbl. Heft 4) ist p. 312. Zeile 21 u. 19 von unten „Thélohania-Form" statt „Thelchania-Form" und Zeile 13 von unten „Restkörper" statt „Restkörner" zu lesen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLVI. Heft 8.

Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Neapel. Direktor: Prof. V. de Giaxa.]

Von Dr. **A. Di Donna**, Assistenten des Institutes.

Todd und Rosenthal waren die ersten, welche dem in der Martinschen Bouillon kultivierten Dysenteriebacillus Shiga-Kruses die Fähigkeit zuschrieben, ein im Nährboden lösliches Toxin zu erzeugen. Diese für die Pathologie und Therapie der bacillären Dysenterie ohne Zweifel bedeutsame Tatsache wurde zum Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, welche zu sehr widersprechenden Resultaten führten. Infolgedessen wird noch heutzutage vielerseits angenommen, daß das resp. Toxin nicht ein echtes Sekretionsprodukt sei, wie man es vom Diptherie- und Tetanusbacillus erhält, sondern ein durch Autolyse befreites Endotoxin. Diese Ansicht wurde zuerst von Kruse aufgestellt. — Conradi und Neisser-Shiga erhielten vom Bacillenkörper, durch Extraktion mit Chlornatrium, eine Substanz, welche, dem Kaninchen injiziert, die Symptome der experimentellen Dysenterie hervorbrachte. Neuerdings aber bekämpfen Kraus und Doerr infolge der Nachprüfungen ihrer früheren Untersuchungen lebhaft Kruses Ansicht, und behaupten, daß die vom Dysenteriebacillus verursachte Krankheit als eine toxische Infektion zu betrachten sei, da neben dem Endotoxin auch ein Sekretionsgift auftritt, welches sich im Filtrate der Martinschen Bouillonkulturen befindet, und welches, wie das Diptheriegift, ein echtes Toxin ist, sich jedoch im Vergleich zu diesem längere Zeit ohne bemerkenswerte Veränderungen aufbewahrnn läßt. Veillard und Dopter sprechen sich über die Natur des Giftes nicht klar aus, benutzen jedoch das durch Filtrierung der Martinschen Bouillonkultur erhaltene Toxin zur kombinierten Pferdeimmunisierung. Lüdke verreibt die von Agarkulturen erhaltenen und im leeren Raume getrockneten Bacillen, behandelt sie mit physiologischer Kochsalzlösung und filtriert durch den Pukal-Filter. Die erhaltene Flüssigkeit ist für das Kaninchen toxisch, und genügt zur Immunisierung. Besredka trocknet die Bakterien im leeren Raume, verreibt sie mit konzentrierter Lösung von Chlornatrium und zentrifugiert; in der Flüssigkeit scheidet sich das lösliche Endotoxin ab.

Augenscheinlich hat sich die Aufmerksamkeit der meisten Autoren hauptsächlich dem Filtrat der Bouillonkulturen und den Extraktionsprodukten mittels Chlornatrium zugewendet, wogegen der restierende Teil des Bakterienkörpers, d. h. der unlösliche Teil, welcher doch auch bei der Immunisierung den Tieren eingeführt wird, wenig Beachtung fand. In jenem Rückstande aber findet sich ein sehr stark wirkendes Gift, welches ich für viel schädlicher halte, als das wahre Sekretionstoxin. B. Klein hat nun letzthin behauptet, daß im Filtrat der Kulturen des Dysenteriebacillus ein Endotoxin im gelösten Zustande enthalten sei, wie aus den ausgeführten Experimenten hervorgeht; er nimmt jedoch an, daß das Gift, im Gegensatze zu dem des Typhus und Cholerabacillus, in den tierischen Organismus eingeführt, fähig sei, ein antitoxisches Serum zu erzeugen, indem es eine gleiche Wirkungsweise wie die der echten Toxine — Diphterie- und Tetanustoxin — zeigt.

Aus dieser großen Divergenz unter den Ansichten der Autoren, welche ein Sekretionstoxin des Dysenteriebacillus angenommen oder bestritten haben, geht hervor, daß der heutigen Tages so gerühmten antidysenterischen Serumtherapie noch eine sichere Basis zur Beurteilung des Verfahrens fehlt, um zu bestimmen, ob es sich um eine antibakterielle oder um eine antitoxische Wirkung des Serums handelt. Ist nun die Dysenterie eine ausgeprägte Intoxikationskrankheit oder eine bakterielle, bei welcher die dem Organismus zugefügte Schädigung nur von dem durch die Autolyse befreiten Endotoxin entsteht? Ein solches Urteil ist nur auf Grund zahlreicher experimenteller Versuche möglich, denn wenn man auch die glänzenden Resultate des bakteriziden oder antitoxischen dysenterischen Serums, wie es bewährte Gelehrte, Shiga, Kruse, Rosenthal, Kanel, Kraus und Doerr, Veillard und Dopter und andere behaupten, zugeben will, kann man doch nicht bestreiten, daß man vom idealen Endziel noch sehr fern ist, da bekanntlich in den Fällen von schwerer Dysenterie 100 bis 150 ccm Serum zur Behandlung eines Kranken notwendig sind.

Ich habe es daher als nicht nutzlos erachtet, die Resultate einer Reihe von an Kaninchen ausgeführten Versuchen zu veröffentlichen, indem ich die Tiere mit Sicherheit gegen den Shiga-Kruseschen Bacillus und das hypothetische Toxin immunisieren konnte, nachdem ich die Schwierigkeiten überwunden hatte, wegen deren man bisher annahm, die Kaninchen seien ganz ungeeignet hierzu, da sie ganz besonders empfindlich gegen das Gift des Ruhrbacillus sind, wie Martini und Lentz in Kolle und Wassermanns Handbuch versichern.

Der Zweck der Arbeit war folgender:

1) Vom Shiga-Kruseschen Ruhrbacillus das Nukleoproteid zu extrahieren und seine Wirkung an Kaninchen zu prüfen;

2) festzustellen, ob man mit den Injektionen des Nukleoproteides ins Blut bei diesem Tiere den Widerstand gegen die nukleäre Substanz des Körpers der Bacillen erhöhen kann, um so den Weg zu einem Immunisierungsprozeß zu zeigen.

3) zu untersuchen, ob der genannte Ruhrbacillus als ein Erzeuger von Sekretionstoxin zu betrachten ist;

4) festzustellen, ob das Serum von immunen Kaninchen polyvalent ist, d. h. ob es simultane Wirkung auf den Shiga- und Kruseschen Bacillus, auf den in Manilla isolierten Flexnerschen Ruhrbacillus und auf 32 Species von Coli-Bacillen besitzt.

I. Virulenz des Ruhrbacillus. Eine Probe des Dysenteriebacillus erhielt ich von Prof. A. Pasquale, der sich ihn von Prof. Kruse erbat. Bei dieser Gelegenheit spreche ich den beiden Herren meinen besten Dank aus. Außerdem habe ich einen Shiga- und Flexner-Manillabacillus benutzt, welche in der Sammlung des hiesigen Instituts sich befinden. Die Virulenz wurde mittels Injektionen ins Blut junger Kaninchen gesteigert und konstant erhalten, und es wurden bei Gelegenheit auch Injektionen ins Peritoneum junger Katzen vorgenommen. Durch die Inokulationen bei Meerschweinchen wird nicht nur die Virulenz nicht erhöht, sondern sie geht auch für Kaninchen verloren. Tatsächlich wird die Species Flexner-Manilla nach einer langen Injektionsperiode beim Meerschweinchen, während sie immer noch eine diskrete Virulenz für dieses Tier besitzt — nie unter 1—2 ccm Bouillonkultur von 24 Stunden für 100 g Gewicht Meerschweinchen — von Kaninchen vertragen, auch wenn man direkt ins Blut zwei volle Agar-

kulturen injiziert, während die Primärprobe für Kaninchen seine Virulenz unverändert zeigt.

II. Immunisierung der Kaninchen. Nachdem sich die Injektionen kleiner Dosen von lebenden oder getöteten Kulturen — die man 1 Stunde auf 60° C hielt — direkt in den Blutkreislauf als unbrauchbar erwiesen hatte, um eine gründliche Immunisierung zu erhalten, da fast alle Tiere gleich oder während der Behandlung durch Abmagerung, Lähmung und Durchfall zugrunde gingen, schlug ich einen anderen Weg ein, indem ich die Immunisierung studierte, die man mit Inokulationen des Nukleoproteides erzielt, welches aus den Bacillenleibern mittels der von Lustig und Galleotti beim Pestbacillus angewandten Methode extrahiert wurde. Aehnliche Studien sind betr. des Typhusbacillus (Paladino) und betreffs des Cholerabacillus (E. Blell) ausgeführt worden. 20--30 Kulturen auf in großen, 25 cm langen und 5 cm breiten Glasröhren konsolidiertem Agar, welches den gewöhnlichen Platten vorzuziehen ist, wurden 3 Tage lang einer Temperatur von 37° ausgesetzt; bei Zusatz von 1-proz. Natronlösung lösten sich dann die Kulturen mit Hilfe eines sterilen Pinsels ab, und, vorsichtig aufgenommen, wurden sie 24 Stunden lang einer Brutofentemperatur von 37° ausgesetzt. Nach der Filtration durch den Schleicherschen Filter mit Hilfe der Pumpe fällte ich sie mit verdünnter Essigsäure und sammelte den gebildeten Niederschlag, der, aus nicht immer festzustellenden Gründen, sehr unbedeutend war. Nach Waschung und Austrocknung bei Zimmertemperatur im Vakuum und auf Schwefelsäure erscheint die Substanz bräunlich; sie ist nach Verreibung löslich in schwach alkalischem Wasser. Eine Dosis von 0,12—0,15 g verursacht, dem Kaninchen ins Blut injiziert, den sofortigen Tod unter Krämpfen; eine entsprechend kleine Quantität der Substanz, 0,01—0,02 g, genügt, um eine lebhafte Reaktion hervorzurufen, während die subkutane Hautinjektion sehr gut vertragen wird. Ich füge das Protokoll von einem der Kaninchen, das mit kleinen steigenden Dosen Nukleoproteids injiziert wurde, bei:

Kaninchen No. X.

Datum	Gewicht in g	Dosis des Nukleoproteides ins Blut in g	Rectaltemperatur
21. Febr.	1050	0,01	38,9°
22. „	920	—	40,9°
23. „	930	0,01	38,5°
24. „	900	0,02	38,9°
25. „	940	0,04	39,4°
26. „	900	—	38,3°
27. „	920	0,06	39,5°
28. „	850	—	39,4°
2. März	1000	0,08	38,6°

Die Kaninchen wurden dann in Ruhe gelassen und ungefähr einen Monat lang unter Beobachtung gehalten, während welcher Zeit sie merklich an Gewicht zunahmen. Sie wurden dann zur Immunisierung mit lebenden Kulturen benutzt.

Auf Grund dieser Versuchsresultate gelangte ich zu der Ueberzeugung, daß das Nukleoproteid des Shiga-Kruseschen Bacillus, ohne schwere nachteilige Wirkung auf den Organismus des Kaninchens auszuüben, dazu dienen könnte, dieses Tier auf die Injektion von lebenden Kulturen, gegen welche es sich äußerst empfindlich erweist, vorzubereiten.

Ich dehnte nun die Untersuchungen auf eine lange Reihe von in Alter und Gewicht verschiedenen Kaninchen aus, indem ich das Nukleoproteid immer in den Blutkreislauf injizierte; indessen wurde die Injektion dann wiederholt, wenn sich das Tier von den durch die vorhergehende Inokulation verursachten nachteiligen Folgen gänzlich erholt hatte. Ich muß noch bemerken, daß das während der Versuchsserie mehrfach auf die angegebene Weise hergestellte Nukleoproteid sich in seiner Wirkung konstant zeigte. Andererseits halte ich es für überflüssig, alle Protokolle der Tiere, an welchen ich die Versuche anstellte, mitzuteilen, um zwecklose Wiederholungen zu vermeiden. Die von den Kaninchen infolge der Behandlung mit dem Nukleoproteid erlangte Widerstandskraft gegen die ins Blut eingeführten virulenten Keime wurden in zwei verschiedenen Perioden bestimmt, nämlich nach der Injektion von 24 cg in toto Nukleoproteid und nach 22 cg. — Das Virus wurde den 24 Stunden alten Agarkulturen mittels normaler Oese (No. 3 Czaplewskis) entnommen. Als tödliche Dosis (DL) wurde die Kulturmenge betrachtet, welche den Tod eines 1000—1200 g schweren Kaninchens innerhalb 18—24 Stunden zu verursachen imstande war.

Das Kaninchen No. XVIII erhielt 14 cg Nukleoproteid in 5 Dosen; am 9. März wiegt es 1580 g; Rektaltemperatur 38,5°; Agglutinationsvermögen des Serums 1:10 negativ. Es wurden 4 DL Kultur inokuliert:

Am 10. März wiegt es 1350 g;	Temp. 40,3°	=	Nach 20 Tagen erlangt es wieder das frühere Gewicht
„ 30. „ „ „ 1560 „	„ 38,9°	=	Injektion von 6 DL.
„ 31. „ „ „ 1480 „	„ 39,8°	=	Es erholt sich binnen 14 Tagen; die Behandlung wird fortgesetzt.

Das Kaninchen No. XXIV erhielt 32 cg Nukleoproteid in 6 Dosen ins Blut. Am 2. April wiegt es 1730 g; Rektaltemperatur 38,8°; Agglutinationsvermögen des Serums 1:20 positiv, 1:50 negativ; es wurden 6 DL Kulturen injiziert. Am 3. April wiegt es 1450 g; Rektaltemperatur 40,8°; es erlangt das frühere Gewicht wieder in 22 Tagen.

Im allgemeinen kann man sagen, daß die Injektion von lebenden Bacillen bei den vorher mit Nukleoproteid behandelten Kaninchen beständig eine lebhafte organische Reaktion hervorrief und daß die Rückkehr zum normalen Zustande nie vor 20 bis 25 Tagen stattfand. Gerade dieser Umstand hielt mich davon ab, die Menge der Kultur über 6 tödliche Dosen hinaus zu steigern, da ich a priori sicher war, das Leben des Tieres damit zu gefährden. Die nachfolgenden Kulturinjektionen wurden erfahrungsgemäß mit großer Umsicht und Langsamkeit und mit gradueller Erhöhung auf höchstens 2 tödliche Dosen und mit Rücksicht auf die jeder Injektion folgenden Gewichtsschwankungen ausgeführt. Auf diese Weise hatte ich keine Verluste zu verzeichnen, und auch nicht jene Lähmungen zu konstatieren, welche beim Immunisierungsprozeß mit lebenden oder durch Hitze getöteten Kulturen sich einzustellen pflegen. Das Nukleoproteid des Shiga-Kruseschen Bacillus bewirkt also beim Kaninchen einen Immunitätzustand.

III. Nukleäre Substanz und gewaschene Bacillen. Bei den mit 1-proz. Natronlösung behandelten Agarkulturen bleibt nach Filtration auf dem Schleicherschen Filter ein Teil ungelöst, welches reichlich mit destilliertem Wasser bis zu fast neutraler Reaktion gewaschen, gesammelt und auf dieselbe Weise wie das Nukleoproteid getrocknet wurde und nach Pulverisation ein grauliches Aussehen zeigt. Es handelt sich um eine nukleäre Substanz, ähnlich jener, die man mittels derselben Methode aus dem Typhusbacillus (Paladino), aus dem Milzbrand (Casagrandi), aus dem Coli-Bacillus (Carega) und aus dem Bacillus subtilis (Enea) erhalten kann. Solche nukleäre Substanzen

sind für Kaninchen und Meerschweinchen äußerst toxisch und erzeugen nach hypodermischer Injektion lokale Symptome von Nekrose und Abszeßbildung. In den Blutkreislauf in einer Dosis von 2—3 cg fein pulverisiert und in physiologischer Chlornatriumlösung suspendiert eingeführt, führen sie den sofortigen Tod der Tiere durch Gerinnung des Blutes herbei. Die Erwärmung bei 100° während einer halben Stunde schwächt das toxische Vermögen nur wenig ab. Gegen diese nukleären Substanzen ist es bis jetzt nicht gelungen, zu immunisieren, und die von mir mit der nukleären Substanz des Shiga-Kruseschen Dysenteriebacillus angestellten Versuche, die ich der Kürze halber übergehe, stimmen mit denen der angeführten Autoren gänzlich überein. Die beim Studium derselben Substanz beobachteten Erscheinungen sind jenen ähnlich, die man bei der Injektion mit den gewaschenen Bacillen beobachtet; die Toxizität derselben übertrifft bei weitem die der nukleären Substanz selbst; der Grund hierfür ist ohne Zweifel in der Methode zu suchen, welche man zur Abscheidung derselben anwendet.

Die gewaschenen Bacillen wurden in folgender Weise hergestellt:

Die Bouillonkulturen, einen Monat lang zur Bereitung des Toxins bei 37° C im Brutofen gehalten, wurden durch den Schleicherschen Filter filtriert. Die auf dem Filter zurückgebliebenen Bacillen wurden sorgfältig in sterilen Porzellanmörsern verrieben, wobei man 0,85-proz. physiologische Kochsalzlösung hinzufügte, und 24 Stunden ruhig stehen gelassen. Es wurde dann wieder filtriert und das Residuum mehrmals mit der physiologischen Lösung gewaschen. Alsdann wurden sie gesammelt, auf die gewöhnliche Weise getrocknet und in dunkelglasigen Fläschchen aufbewahrt. Die Toxizität wird durch das Austrocknen nicht beeinträchtigt, und hält sich lange Zeit hindurch unverändert. In der Tat genügen nach $1^1/_2$ Jahren, wie gleich nach der Herstellung, 2 mg, um nach endovenöser Injektion den Tod eines großen Kaninchens in 2—3 Tagen mit Abmagerung und Lähmung herbeizuführen; eine große Menge tötet augenblicklich unter allgemeinen Krämpfen. Einige Kaninchen sind gegen dieses endocelluläre Gift so sehr empfindlich, daß sie in demselben Zeitraum einer Dosis von 0,5 mg erliegen. Wenn man einem Kaninchen 2 mg Bacillen injiziert, die eine halbe Stunde lang der Siedehitze ausgesetzt waren, so geben die Tiere kein Zeichen von Unwohlsein; auch die Temperatur übersteigt nicht die normale. Wird die Injektion ins Blut auf dieselbe Weise wiederholt, so bekommen die Kaninchen binnen 24 Stunden Lähmung, sind mit weichen Faeces beschmutzt, und sterben mit starker Temperaturherabsetzung vor Ablauf von 48 Stunden. Wird die Behandlung mit sehr kleinen Dosen begonnen, so gelingt es, einen schwachen Immunitätsgrad zu erzielen.

Kaninchen No. XL:

Datum	Gewicht in g	Dosis gewaschene Bacillen in g	Rektaltemperatur	Bemerkungen
24. Juli 1906	1200	0,00025	38,9°	
25. „	1220	0,005	39,2°	
26. „	1180	—	39,5°	
27. „	1215	0,001	39,1°	
28. „	1200	0,002	39,0°	
30. „	1220	0,003	39,0°	
1. Aug.	1210	—	39,5°	
3. „	1225	0,004	39,1°	
8. „	1220	0,008	39,0°	stirbt

Es wurde nacheinander die Wirkung der gewaschenen und getrockneten Bacillen an drei in derselben Weise immunisierten Kaninchen bestimmt, und zwar zuerst mit dem Nukleoproteid, dann mit Kulturen von lebenden Bacillen; die Resultate waren folgende:

Kaninchen No. XXV	= 1 cg endovenös	=	überlebt.
„ „ XXVI	= 3 „ „	=	stirbt am 10. Tage mit starker Abmagerung und Parese.
„ „ XXVII	= 3 „ hypodermat	=	starke Temperaturhöhung und Abmagerung. Es erholt sich wieder in 8 Tagen. In situ: Bildung eines Abszesses von der Größe eines kleinen Hühnereies, welcher nach 4 Monaten noch nicht ganz verschwunden ist.
Kontrolle	= 9 cg hypodermat	=	stirbt in ca. 48 Stunden.

Aus dem Gesagten kann man folgern, daß die von den 1 Monat alten Bouillonkulturen getrennten Bacillenleiber eine hohe toxische Wirkung bewahren. Die Wirkung, welche die toxische Substanz während des Immunisierungsprozesses auf den Organismus ausübt, muß jedenfalls richtig abgeschätzt werden. Es ist nicht auszuschließen, daß ein Teil derselben Substanz, durch Autolyse des Keimes frei geworden, in die Nährflüssigkeit übergeht. Die getrockneten, in den Blutkreislauf eingeführten Bacillen verursachen Lähmung, Abmagerung, Durchfall, wobei eine geringere Menge erforderlich ist als bei subkutaner Injektion, welche Infiltrationen und Abszesse hervorruft. Es ist anzunehmen, daß in den mit lebenden Dysenteriekulturen zu Immunisierungszwecken infizierten Tieren sich entsprechende Antikörper bilden, jedoch in sehr beschränktem Maße. Zu dieser Behauptung berechtigen mich auch die Resultate anderer Untersuchungen, die ich nachstehend darlegen will.

IV. Immunisierung mit der Substanz, die mittels Chlornatrium extrahiert wird. Der Shiga-Krusesche Bacillus sondert, wenn er während eines Monats in Berührung mit der physiologischen Kochsalzlösung ist, nach Conradi eine toxische Substanz ab, welche, dem Kaninchen injiziert, im Dickdarm typische Dysenteriesymptome hervorruft. Neisser und Shiga sterilisierten bei 60° die Keime und ließen die Wirkung des Salzes (0,85 Proz.) nur 3 Tage lang andauern, um die freien Rezeptoren zu erhalten. Kraus und Doerr behaupten, das es genügt, die physiologische Lösung nur einen Tag einwirken zu lassen, indem man die Kulturen in einen geeigneten Schüttelapparat bringt. Nach der Filtration erhält man eine von der nach anderen Methoden erhaltenen etwas abweichende Substanz.

Die von Neisser und Shiga an die Absonderung der freien Rezeptoren aus dem Typhusbacillus geknüpften Hoffnungen, einen antityphischen Impfstoff zu erhalten, haben sich bei Verwendung des Ruhrbacillus bislang nicht erfüllt. Neisser und Shiga beobachteten außerdem, daß die mittels Chlornatrium abgesonderte Substanz durch eine Mischung von Alkohol und Aether fällbar ist. Ich habe absoluten Alkohol angewendet und gefunden, daß dieser allein genügt. Nach der Fällung erhält man nämlich eine Substanz, welche im trocknen Zustande gräulich aussieht, lange Zeit vollständig intakt aufbewahrt werden kann (meine Untersuchungen gehen nicht über anderthalb Jahr hinaus), und so den großen Vorteil einer exakten Dosierung darbietet. 1 cg dieser Substanz, in der physiologischen Lösung wieder aufgelöst und ins Blut eines 1200 bis 1400 g schweren Kaninchens eingeführt, tötet dasselbe in 2 bis 3 Tagen, während 2 cg in weniger als 16 Stunden letal

wirken. In steigenden Dosen injiziert, bringt sie folgende Reaktionen hervor:

Kaninchen No. XVI.

Datum	Gewicht in g	Dosis (ins Blut) in g	Rektaltemperatur
1. Febr.	1280	0,005	38,9°
2. „	1250	—	40,5°
9. „	1320	0,01	38,9°
10. „	1240	—	40,8°
14. „	1400	0,015	38,6°
19. „	1400	0,02	38,7°
25. „	1410	0,025	38,5°

Am folgenden Tage liegt das Kaninchen auf dem Bauche, ist gelähmt und mit Diarrhöefaeces beschmutzt. Es stirbt am 27. Februar um 8 Uhr morgens mit Temperatur von 37,2°.

Auf subkutanem Wege kann man von vornherein 2 cg einführen; es erfolgt schwache Abmagerung und Temperaturerhöhung, aber die Tiere erholen sich bald wieder vollständig. Die nachfolgenden Injektionen von 3 und 4 cg rufen zirkumskripte Infiltrationen hervor, die lange Zeit andauern. Nach der subkutanen Injektion von mehreren steigenden Dosen kann man die Substanz selbst in die Peritonealhöhle bringen, ohne das Leben der Kaninchen zu gefährden: dieselben zeigen sich nach der 6. Injektion (in toto 14 bis 15 cg Substanz) bereits restistent gegen die Inokulation von tödlichen Dosen lebender, in den Blutkreislauf eingeführter Bacillen, wobei als Folgezustand nur eine starke Gewichtsabnahme und Temperaturerhöhung eintritt.

Aus diesen Resultaten geht hervor, daß die mittels der physiologischen Kochsalzlösung aus dem Shiga-Kruseschen Bacillus extrahierte Substanz sich zur Immunisierung des Kaninchens mit subkutaner oder Bauchfellinjektion eignet, während sie, in den Blutkreislauf eingeführt, toxisch und lähmend wirkt. Es ist anzunehmen, daß eine geringe Menge nukleärer Substanz in Verbindung mit einem anderen Endotoxin (Nukleoproteid?) in der physiologischen Kochsalzlösung sich auflöst. Von diesem Gesichtspunkte aus wären die verschiedenen Resultate zu erklären, die von Kraus und Doerr mit ihrem Extrakt erhalten wurden, und zwar wenn sie die physiologische Lösung nur 24 Stunden einwirken ließen. Der Umstand, daß die freien Rezeptoren im Trockenzustande nach Fällung mit absolutem Alkohol lange Zeit hindurch unverändert ihre spezifische Eigenschaft bewahren, verdient auch vom praktischen Standpunkte aus, in Betracht gezogen zu werden.

V. Toxizität des Filtrates von Bouillonkulturen. Wie schon eingehend erwähnt, haben bedeutende Forscher sich sehr abweichend über die Bildung des Sekretionstoxins seitens des Ruhrbacillus Shiga-Kruses ausgesprochen, und die Frage ist heute noch nicht gänzlich gelöst.

Die Kulturen wurden mit Kalbfleischbouillon von alkalischer Reaktion und Hinzufügung von 1½ Proz. Pepton Witte bereitet, und 1 Monat lang im Brutofen bei 36° C gehalten. Dann filtrierte ich durch Pukal-Filter. Das ins Blut des Kaninchens inokulierte Filtrat tötete in einer Dosis von 0,1 g in 2 bis 3 Tagen das Tier sicher unter Gewichtsverlust, Lähmung und Durchfall. Zur Erhöhung der toxischen Wirkung führte ich die Konzentration bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur

aus, wodurch 2 Liter auf 150 ccm reduziert wurden, ohne daß die toxische Wirkung sich änderte: $^1/_{200}$ ccm endovenös injiziert, genügte, um den Tod eines Kaninchens herbeizuführen. Es ist noch zu bemerken, daß einige Kaninchen gegen dieses Filtrat eine derartige Empfindlichkeit zeigten, daß sie schon bei $^1/_{500}$ und $^1/_{1000}$ ccm starben. Wenig oder unbedeutend ist dabei der Einfluß des Gewichtes des Tieres.

Wie Kraus und Doerr beobachtet haben, erhält sich die Toxizität auch bei Zusatz von $^1/_2$ Proz. Phenol lange Zeit unverändert.

Die mit Blutinjektion beim Kaninchen vorgenommenen Immunisierungsversuche führten zu äußerst entmutigenden Resultaten, auch wenn mit sehr kleinen Mengen begonnen wurde, so daß ich diese Methode gänzlich aufgab. Die subkutanen Injektionen hingegen erwiesen sich als zweckentsprechend: $^1/_{10}$ ccm wurde gut vertragen, es trat jedoch bei denjenigen Kaninchen, welche mit einer Dosis von $^1/_4$, $^1/_2$ und 1 ccm injiziert wurden, innerhalb 2 bis 3 Tagen der Tod ein. Die Resultate blieben im ganzen Verlaufe der Experimente konstant. Ich füge in Kürze das Protokoll eines des immunisierten Kaninchens bei:

Kaninchen No. XXV.

Datum	Gewicht in g	Dosis Bouillonfiltrat (subkutane Injektion) in ccm	Rektal-temperatur	Bemerkungen
2. Aug.	1600	0,1	38,4°	
6. „	1650	0,2	—	
7. „	1650	—	38,5°	
18. „	1650	0,5	38,2°	
24. „	1700	1	38,6°	geringes lokales Infiltrat
27. „	1730	2	38,3°	
28. „	1700	—	39,0°	lokale Reaktion
2. Sept.	1700	2	—	
3. „	1700	—	39,1°	„ „
8. „	1800	3	—	„ „
9. „	1835	—	39,3°	„ „
15. „	1850	4	—	

Mit progressiver Steigerung der Dosis gelangte ich dann bis zur Injektion von 10 ccm auf einmal. In toto erhielt jedes Kaninchen 60,5 ccm.

Bei den so behandelten Tieren wurden folgende Versuche mit lebenden und getrockneten Bacillen ausgeführt:

Kan. No. XXXV intravenös 4 DL von lebenden Bacillen = überlebt
„ „ XXXVI „ 6 „ „ „ „ = Paresis, überlebt
„ „ XXXVII „ 0,03 g „ gewasch. und getrock. B. = Lähmung, stirbt am 3. Tage
„ „ XXXVIII subkut. 0,01 „ „ „ „ „ „ = Bildung von Abszeß; überlebt
„ „ XXXIX „ 0,03 „ „ „ „ „ „ = Ausgedehnte Infiltration der Bauchdecken; Abszeß; überlebt.

Bei den mit virulenten Bacillenkulturen immunisierten Kaninchen erzielte ich mit Injektion des konzentrierten Filtrates von Bouillonkulturen folgende Resultate:

Kaninchen X subkutan 4 ccm Filtrat = überlebt
„ XI „ 6 „ „ = „
„ XII „ 10 „ „ = starke allgemeine Reaktion; überlebt.

Diese Resultate berechtigen mich zu folgenden Schlußfolgerungen: Das Filtrat der Bouilonkulturen des Shiga-Kruseschen

Bacillus besitzt eine ziemlich hohe toxische Wirkung, welche sich bei 50° nicht ändert, auch wenn diese Temperatur zwei Tage andauert. Durch Konzentration wird die Toxizität relativ erhöht und erhält sich lange Zeit hindurch unverändert.

Betreffs der Frage, ob dieses Toxin als ein Sekretionsgift oder als ein Endotoxin zu betrachten sei, glaube ich, daß die zweite Hypothese annehmbar ist. Das Endotoxin des Shiga-Kruseschen Dysenteriebacillus ist höchst toxisch, während 0,05 bis 0,1 ccm des Filtrates von Bouillonkultur genügt, um ein Kaninchen zu töten, verursachen 2 mg und selbst weniger von gewaschenen Bacillen ebenfalls den Tod des Tieres unter Abmagerung, Lähmung und Durchfall. Das würde auch mit der Tatsache in Uebereinstimmung stehen, daß die Endotoxine Gifte sind, welche sich lange unverändert erhalten und gegen die Einwirkung der Wärme und anderer physischen Faktoren weniger empfindlich sind, als die echten Sekretionstoxine. Das hypothetische, in den Martinschen Bouillonkulturen gefundene Toxin entspricht nach den Resultaten der Experimente anderer Autoren vollständig dem in gewöhnlicher Kalbfleischbouillon konstatierten. Hier äußert sich dann die toxische Wirkung durch die sehr zeitig eintretende Zerstörung der entwickelten Keime. Diese bei Dysenterieinfektion beobachteten Symptome lassen sich nun auch ohne Annahme eines echten Sekretionstoxins erklären, wenn man die große Toxizität der Shiga-Kruseschen Bacillenleiber in Betracht zieht. Der elektiv im Dickdarm lokalisierte Keim entwickelt sich an Ort und Stelle, aber ein großer Teil der Bacillen in Kontakt mit den organischen Säften und mit den Zellen ist fernerhin einem Auflösungsprozeß unterworfen, wobei eine Resorption von Endotoxin in den Blutkreislauf stattfindet, wodurch lokale Gewebsveränderungen, sowie Symptome von allgemeiner Intoxikation hervorgerufen werden können. Bei den Kaninchen kann man nun, wenn sich der Tod kurze Zeit nach der Infektion einstellt, Symptome von allgemeiner Intoxikation beobachten; tritt jedoch der Tod erst nach einigen Tagen ein, wie es bei jenen Tieren der Fall ist, die eine große Empfindlichkeit des Dickdarms gegen die Infektion aufweisen (was aber nicht bei allen Kaninchen der Fall ist), so findet man typische Veränderungen des Dickdarmes, ohne daß es gelänge, nach dem Tode des Tieres den injizierten Keim aufzufinden und zwar weder in den Organen, noch in den Darmwandungen, welche letztere sich infiltriert, ödematös oder gleichmäßig rötlich oder hämorrhagisches Geflecht zeigend und von schleimiger Substanz, vermischt mit weichen Faeces, bedeckt erscheinen. Zur Erzeugung derartiger Veränderungen genügt sowohl eine tödliche Dosis von lebenden, als auch eine von gewaschenen und getrockneten Bacillen, wie auch das Filtrat von Bouillonkulturen. Folglich muß man sowohl die allgemeinen toxischen Symptome, wie auch die lokalen Veränderungen dem Dysenterieendotoxin zuschreiben. Dadurch, daß die mit lebenden Agarkulturen immunisierten Kaninchen sich gegen hohe Dosen toxischen Filtrates widerstandsfähig zeigen, wurde meine Ansicht bestätigt.

VI. Agglutination. Die vorstehenden Versuche hatten hauptsächlich das Studium der Agglutination als Ziel. Das Serum der mit Kulturen immunisierten Kaninchen wies eine Agglutinationsfähigkeit auf, welche zwischen 1:1600 und 1:2000 schwankte. Bei kleinen Tieren war es anderen Autoren bis jetzt nicht gelungen, dies zu erreichen.

Das mit dem Kruseschen Bacillus bereitete Serum zeigt sich wirksam sowohl gegen denselben Bacillus, aus dem Laboratorium Kruses herstammende, wie den Shigaschen Bacillus, welcher sich in der Sammlung des hiesigen Institutes befand, während es auf den Flexner-Manilla-Bacillus nur schwach, und zwar im Verhältnis von 1:50 einwirkte. Diese letzte Reaktion, die mit bloßem Auge nicht deutlich erkennbar war, konnte man bei der Beobachtung im hängenden Tropfen unzweifelhaft wahrnehmen. Diese Erscheinung ist jedoch meiner Ansicht nach durchaus nicht für spezifisch zu betrachten, sondern vielmehr dem Mitagglutinin zuzuschreiben. Ferner wurde die Mitwirkung der Sera auf 32 Bacillus coli untersucht (von denen 6 von gesunden Kindern, 6 von an verschiedenen Darmkrankheiten leidenden Kindern, 4 von Faeces von Katzen, 4 von Faeces erwachsener Personen, 4 von Faeces von Meerschweinchen und Kaninchen, 7 von unreinen Gewässern herstammten) und schließlich die Wirkung auf den Ruhrbacillus Cellis geprüft. In allen Fällen war das Resultat negativ. Das Serum der mit Filtrat der Bouillonkulturen behandelten Kaninchen wies einen schwankenden Agglutinationstiter von 1:150 und 1:200 auf.

VII. Wirkung des Serums der immunisierten Kaninchen. Durch die folgenden Versuche prüfte ich die Wirkung des von mit den lebenden Kulturen behandelten Kaninchen erhaltenen Serums gegen das hypothetische Dysenterietoxin, sowie die Wirkung des Serums von mit dem Filtrat von Bouillonkulturen immunisierten Kaninchen auf die lebenden Kulturen und diesbezüglichen Filtrate. Zu diesem Zwecke inokulierte ich den größeren Teil der Kaninchen direkt in den Blutkreislauf, wobei junge, 1000 bis 1200 g schwere Tiere benutzt wurden.

A. Serum von mit Kulturen immunisierten Tieren.

1) Serum 1 ccm + 4 DL Bacillen = überlebt
„ 1 „ + 6 „ „ = starker Gewichtsverlust; überlebt
„ 1 „ + 8 „ „ = stirbt in ca. 24 Stunden; Isolierung des Keimes aus Blut und Organen, negativ
„ 1 „ + 10 „ „ = stirbt in ca. 15 Stunden; positive Isolierung
„ 1 „ + 4 „ Shiga-Probe = überlebt
„ 1 „ + 1 „ Flexnerbacillus = stirbt in ca. 20 Stunden.

2) Serum 1 ccm + 0,50 Bouillonkultur Filtrat (100 DL) = überlebt
„ 1 „ + 1,0 „ „ (200 „) = „
„ 0,5 „ + 1,0 „ „ (200 „) = „
„ 0,1 „ + 1,0 „ „ (200 „) = „
„ 0,05 „ + 1,0 „ „ (200 „) = stirbt am 10. Tage
„ 0,01 „ + 1,0 „ „ (200 „) = stirbt in ca. 15 Stunden.

3) 1 DL Bacillen und nach 8 Stunden 1 ccm Serum = überlebt
1 „ „ „ „ 14 „ 1 „ „ = „
1 „ „ „ „ 20 „ 1 „ „ = stirbt.

B. Serum von mit Filtrat von Bouillonkulturen behandelten Kaninchen.

α) Serum 1 ccm + 1 DL Bacillen = überlebt
„ 1 „ + 2 „ „ = „
„ 1 „ + 4 „ „ = stirbt am 16. Tage mit typischen Alterationen des Dickdarmes
„ 1 „ + 6 „ „ = stirbt in weniger als 15 Stunden.

β) Serum 1 ccm + 0,5 entsprech. Filtrat (100 DL) = überlebt
„ 1 „ + 1 „ „ (200 „) = „
„ 0,5 „ + 1 „ „ (200 „) = „
„ 0,1 „ + 0,5 „ „ (100 „) = stirbt in ca. 48 Stunden
„ 0,1 „ + 1,0 „ „ (200 „) = stirbt in wenigen Stunden.

γ) 0,1 ccm Filtrat und nach 6 Stunden 1 ccm Serum = stirbt am 5. Tage mit typischen Symptomen des Dickdarmes
0,2 „ „ „ „ 6 „ 1 „ „ = stirbt am folgenden Tage.
δ) 1 ccm Filtrat subkutan und nach 10 Stunden 1 ccm Serum ins Blut = überlebt
1 „ „ „ „ „ 20 „ 1 „ „ „ „ = „
1 „ „ „ „ „ 30 „ 1 „ „ „ „ = „

Diese kurz zusammengefaßten Resultate zeigen, daß das Blutserum der mit steigenden Dosen von Kulturen des Shiga-Kruseschen Dysenteriebacillus inokulierten Kaninchen sich wirksam sowohl gegen eine beschränkte Zahl von tödlichen Dosen dieses Bacillus, als auch gegen ein Multiplum von tödlichen Dosen des Filtrates der Bouillonkulturen erweist. Andererseits schützt das Blutserum der mit diesem Filtrate subkutan inokulierten Kaninchen den Organismus sowohl vor der Vergiftung seitens des Filtrates wie auch vor der Infektion mit den lebenden Kulturen. Neben seiner präventiven besitzt das Serum auch eine therapeutische Wirkung. Die Agglutination und die Schutzwirkung erstrecken sich auf den Shiga-Kruseschen Bacillus, aber nicht auch auf den Flexnerschen Ruhrbacillus und die Coli-Bacillen.

Schlußfolgerungen.

1) Die Passage der Shiga-Kruseschen und Flexner-Manilla-Dysenteriebacillen durch das Meerschweinchen verursacht eher eine Verminderung als eine Steigerung der Virulenz.

2) Aus dem Shiga-Kruseschen Ruhrbacillus kann man ein Nukleoproteid erhalten, welches immunisierende Eigenschaften für die Kaninchen besitzt; im Gegensatze zu der nukleären Substanz verursacht das Nukleoproteid keine Gewebsnekrose.

3) Die mit nukleärer Substanz behandelten Kaninchen ertragen höchstens ein geringes Multiplum der antigenen Substanz, und auch dieser beschränkte Erfolg wird nur nach einer langdauernden und sehr behutsamen Behandlung erhalten.

4) Die infolge Autolyse der Bacillen mittels der physiologischen Kochsalzlösung abgesonderten freien Rezeptoren können nukleäre Substanz enthalten, wobei wahrscheinlich die Mazerationsdauer von Einfluß ist. Aus der Salzlösung kann man mit absolutem Alkohol die aktive Substanz fällen, welche sich im Trockenzustande lange Zeit unverändert erhält und sich auch durch ihre immunisierende Wirkung jener des Nukleoproteids nähert.

5) Da nicht genügende Gründe für das Dasein eines Sekretionstoxins des Shiga-Kruseschen Bacillus vorliegen, darf man im Gegenteil behaupten, daß in den Bouillonkulturen desselben sich eine gewisse Menge von nukleärer Substanz und von Nukleoproteid in gelöstem Zustand befindet.

6) Das Serum der mit Bacillenkulturen immunisierten Kaninchen neutralisiert auch ein Multiplum von tödlichen Dosen des hypothetischen Sekretionstoxins; das Serum der mit Filtrat von Bouillonkulturen behandelten Kaninchen erweist sich auch als Schutzmittel gegen lebende Bacillen.

7) Auf den Flexner-Bacillus und die Coli-Bacillen übt das Shiga-Krusesche Immunserum keinen Einfluß aus.

Literatur.

Todd, Brit. med. Journal. 1903.
Rosenthal, Dieses Centralbl. Bd. XXXIV. 1902.
Kruse, Deutsche med. Wochenschr. 1903.
Conradi, ibidem.
Neisser und Shiga, ibidem.
Shiga, ibidem.
Lustig und Galeotti, Ibidem. 1897.
Veillard und Dopter, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VIII. 1905.
Besredka, ibidem. 1906.
Kraus und Doerr, Zeitschr. f. Hyg. und Infekt. Bd. LV. 1906.
Blell, ibidem.
Martini und Lentz, Kolle und Wassermanns Handbuch.
Kanel, Münch. med. Wochenschr. Ref. 1905.
Klein, B., Dieses Centralbl. Bd. XLIV. 1907.
Carega, ibidem. Bd. XXXIV. 1903.
Casagrandi, Annali d'Igiene sperimentale. 1902.
Paladino, Riforma medica. 1901 und Policlinico. 1903.
Enea, ibidem.

Die Plattenkultur der Streptobacillen des Ulcus molle.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute (Prof. Weichselbaum) und der Klinik für Geschlechts- und Hautkrankheiten (Prof. Finger) der Universität Wien.]

Von Dr. **Robert Stein.**

Mit 1 Tafel.

Ducrey und Krefting beschrieben fast gleichzeitig im Eiter des weichen Schankers Streptobacillen, die auf Grund zahlreicher Nachuntersuchungen als spezifisch für das Ulcus molle erkannt wurden.

Die Reinzüchtung derselben scheiterte anfangs an zwei unüberwindbaren Hindernissen. Erstens fehlte der geeignete Nährboden und zweitens war es unmöglich, aus dem Bakteriengewirr des schankrösen Sekretes den empfindlichen und durch Saprophyten so leicht überwucherten Mikroorganismus zu isolieren.

Beide Schwierigkeiten wurden dadurch umgangen, daß man an den infizierten Individuen eine Art Anreicherungsverfahren in Anwendung brachte. Mit dem Eiter des ursprünglichen Muttergeschwüres erzeugte man Inokulationsulcera; jedes folgende enthielt das Virus in reinerer Form als das vorhergehende, und schließlich gelang es, einen bloß Streptobacillen führenden Impfschanker zu provozieren, eine Methode, die weder vom bakteriologischen noch vom medizinischen Standpunkte aus als einwandfrei bezeichnet werden kann.

Ja, selbst nachdem der geeignete Nährboden gefunden worden war, wurde diese Art der Isolierung noch weiter geübt, angeblich deshalb, weil die Züchtung des genannten Bacillus auf Platten nicht gelingen wollte.

Auf welchem Nährboden wächst der Ducreysche Bacillus am besten? Ducrey, der ihn entdeckte, konnte Reinkulturen nicht gewinnen, und als erster dürfte Lenglet solche dargestellt und im Jahre 1898 in der Pariser Dermatologischen Gesellschaft demonstriert haben. Der genannte Autor suchte ein möglichst adäquates Nährmedium zu konstruieren, und

macht über die Zusammensetzung desselben folgende Angaben: 20 Teile fein zerkleinerter Menschenhaut, 50 Teile destillierten Wassers, 1 Teil Pepsin und 1—3 Tropfen Salzsäure werden einige Stunden hindurch bis zur gänzlichen Verdauung einer Temperatur von 40—45° ausgesetzt; 2 Teile dieses Peptons kommen auf 100 Teile Agar und 1 ccm Menschenblut.

Istamanoff und Aspianz setzten dem Agar ein Filtrat pulverisierter und bei 120° macerierter Menschenhaut zu.

Besançon, Griffon und le Sourd erklärten ein Gemenge von 2 Teilen verflüssigten und auf 50° abgekühlten Agars mit 1 Teil Kaninchenblut als besten Nährboden für das Schankervirus.

Babes konnte die erwähnten Angaben zum großen Teile bestätigen und auf dem „sang gelosé“ das üppigste Wachstum erzielen; alle anderen Medien hingegen versagten.

Lipschütz, der infolge seiner zahlreichen, an unserer Klinik angestellten Züchtungsversuche über eine große Erfahrung verfügte, bediente sich ebenfalls des Besançonschen Nährbodens. Da nun eben dieser relativ schwierig herzustellen ist, so bemühte sich Lipschütz, ein Surrogat an Stelle des Kaninchenblutes zu finden. In mit Serum oder Ascitesflüssigkeit etc. versetztem Agar oder Bouillon konnte nie ein Wachstum von Streptobacillen erzielt werden, und einige Tage nach dem Einbringen des streptobacillenhaltigen Materials aus Blutagarkulturen in das Kondenswasser von Serumagarröhrchen konnten nicht mehr die Ducreyschen Bacillen, sondern nur sich schlecht färbender Detritus nachgewiesen werden. Sämtliche Versuche, durch die Anwendung künstlicher Hämoglobinpräparate die Herstellung des Nährbodens zu vereinfachen, mißlangen.

Auch nach Tomaczewsky wachsen Streptobacillen ausschließlich auf Blutagar, Blutagarkondenswasser und nicht koaguliertem Blute.

Die Bereitung des ebengenannten Nährbodens stößt auf keinerlei Schwierigkeiten, wenn man Assistenz zur Verfügung hat. Die Carotis eines mit Aether leicht narkotisierten Kaninchens wird unter möglichst aseptischen Kautelen freipräpariert und nahe dem Unterkiefer abgebunden. Hierauf klemmt man das Gefäß mit einem Schieber ab, durchschneidet es und faßt das klaffende Lumen mit einer feinen Pinzette, ohne die Arterie dabei zu komprimieren. In vorher verflüssigten und dann auf 50° abgekühlten Agarröhrchen wird das lebenswarme Blut aufgefangen und mit einem Platinspatel innig gemischt. Es ist nicht ratsam, mehr Blut, als ein Drittel der ursprünglichen Agarmenge beträgt, einlaufen zu lassen, da sonst die Mischung nicht erstarrt und im Brutofen von der Wand der Eprouvette abrutscht. Andererseits muß sich in den schief gelegten Röhrchen eine große Menge Kondenswasser bilden und der Nährboden intensiv durchfeuchtet sein; denn gerade eine starke Durchfeuchtung ist eine conditio sine qua non für ein üppiges Wachstum des Streptobacillus. Aus diesem Grunde müssen die Eprouvetten im Brutschrank mit Guttaperchapapier oder einem Gummihütchen verschlossen werden.

Will man den Kaninchenblutagar zu Platten gießen, so wird eine Anzahl steriler und leicht erwärmter Petri-Schalen vorbereitet.

Das Blutagargemisch wird ebenfalls in Eprouvetten hergestellt und dann rasch in die Schalen gegossen.

Da das Einfließenlassen des Blutes direkt aus dem spritzenden Gefäß in die einzelnen Röhrchen einige Uebung und geschicktes Augenmaß

erfordert, habe ich versucht, defibriniertes Menschen- und Kaninchenblut zu verwenden, jedoch mit negativem Erfolge.

Alle Blutnährböden müssen vor dem Gebrauche durch 48 Stunden im Brutofen beobachtet werden, denn trotz größter Vorsicht und Flinkheit bei der Herstellung derselben kann man eine Verunreinigung durch Luftkeime oder in der Blutbahn des Versuchstieres kreisende Mikroorganismen nicht immer vermeiden.

Als Ausgangsmaterial zur Züchtung des Streptobacillus habe ich eine ganz bestimmte und wohlcharakterisierte klinische Erscheinungsform des Ulcus molle herangezogen. Dieselbe findet sich besonders häufig bei Frauen, die ein weiches Geschwür an der Portio vaginalis längere Zeit hindurch unbemerkt umhertragen. Durch das ausfließende, hochinfektiöse Sekret entstehen rings um die Vagina und in der Umgebung des Vestibulum vulvae kleinste miliare Absceßchen, sogenannte follikuläre Ulcera mollia. Bevor diese nun durchbrechen, enthalten sie fast ausschließlich den Ducreyschen Bacillus; denn die Natur hat hier Verhältnisse geschaffen, welche einer direkten Uebertragung schankrösen Eiters auf eine absichtlich gesetzte Hautläsion außerordentlich nahe kommen. Die Nachbarschaft eines solchen, noch nicht perforierten Pustelchens wird vorsichtig mit Sublimat, Aether und Alkohol gereinigt und dieses selbst mit einer sterilen Lanzette angestochen. Das ausfließende Eitertröpfchen fängt man mit einer Platinöse auf und beschickt damit ca. 8—10 Blutagarröhrchen, wobei darauf zu achten ist, daß auch das am Boden des Röhrchens angesammelte Kondenswasser infiziert wird. Die geimpften Eprouvetten werden schräg in den Brutofen gelegt, weil die auf dem festen Teile des Nährbodens sich entwickelnden Streptobacillenkolonieen leicht abrutschen. Nach 48 Stunden bereits erscheinen die morphologisch so wohlcharakterisierten, untereinander zu Knäueln und Zöpfen verflochtenen Ketten im Kondenswasser. Auch auf der Schiefagarfläche schießen mitunter schon in der ersten Generation kleinste hirsekorn- bis stecknadelkopfgroße, leicht abhebbare, nur wenig konfluierende Kolonieen auf, die aus Ducrey-Bacillen bestehen.

Doch nur in den seltensten Fällen sind die genannten Mikroorganismen in Reinkultur aufgegangen. Die relativ größte Anzahl derselben enthält das Kondenswasser, auf dem Schiefagar finden sich Kulturen anderer harmloser Saprophyten der Haut. Mit ziemlicher Konstanz beobachtete ich das Auftreten kleiner, intensiv weißer, stark opaker Kolonieen, die leicht zusammenfließen und aus kurzen, plumpen grampositiven Stäbchen in Form und Gestalt der Pseudodiphtheriebacillen bestehen. Schon Zeissl hat auf diese eigentümliche Symbiose dieser Pseudodiphtherideen mit dem Ducreyschen Bacillus hingewiesen. Sie überwuchern auf künstlichem Nährboden die empfindlichen Streptobacillen mit Sicherheit. Zur Weiterzüchtung der letzteren eignet sich am besten das infizierte Kondenswasser; man trägt eine Platinöse in eben dieses und impft mit ein und demselben Tröpfchen mehrere Blutagarplatten hintereinander, wodurch die Wahrscheinlichkeit, isolierte Kolonieen zu erhalten, erhöht wird.

Werden eben diese Blutagarplatten ohne weitere Vorsichtsmaßregeln in den Brutofen gestellt und nach 48 Stunden auf ihren Bakteriengehalt geprüft, so ergibt sich eine merkwürdige Divergenz im Wachstum der Streptobacillenkolonieen auf dem festen Teile der zur Kontrolle gestrichenen Blutagarröhrchen einerseits und auf den Blutagarplatten andererseits. Während in den Eprouvetten neben even-

tuellen Verunreinigungen immerhin oft ziemlich reichlich die charakteristischen Bacillenverbände zu sehen sind, finden wir auf den durch die Wärme des Brutofens vollständig ausgetrockneten Platten fast niemals Streptobacillenkolonieen. Da nun in schief gelegten Blutagarröhrchen nicht bloß im Kondenswasser, sondern auch auf der erstarrten Partie die genannten Keime üppig gedeihen, so kann der Grund des negativen Kulturergebnisses nicht an dem Nährboden liegen — denn dieser hat ja seine Zusammensetzung durch das Gießen in Petrische Schalen nicht geändert — sondern es müssen äußere Umstände maßgebend sein. Ich glaube nun ein Verfahren gefunden zu haben, welches die Kultivierung auf Blutagarplatten ermöglicht. Der Vorteil einer solchen ist für jeden, der sich bemühte, diese empfindlichen Bacillen in Reinkultur zu gewinnen, ein ganz evidenter.

Bevor ich auf die erprobte Methode näher eingehen kann, muß ich noch einer ausführlichen Arbeit Erwähnung tun, die im vorigen Jahre erschienen ist und deren Autor — Alberto Serra — sich in vollständigen Gegensatz stellt zu dem bisher Bekannten. Hat ein Bakteriologe vom Rufe eines Babes mitgeteilt, daß bei der Züchtung des Ducreyschen Mikroorganismus, mit Ausnahme des Griffon-le Sourdschen, alle anderen gebräuchlichen Nährböden im Stiche lassen, haben ferner Tomaczewsky und Lipschütz niemals auf einem anderen Medium als auf Kaninchenblutschiefagar oder in dessen Kondenswasser Wachstum erzielt und ist überdies dem letztgenannten Autor trotz seiner reichen Erfahrung auf diesem Gebiete die Anssaat von Kondenswasserkulturen auf Blutagarplatten in keinem Falle gelungen, so berichtet uns Serra hingegen folgendes: „Der Streptobacillus des Ulcus molle, anfänglich auf Blutagar isoliert, läßt sich auch sehr gut auf gewöhnlichem Agar und allen anderen in der Bakteriologie gebräuchlichen Nährböden züchten."

Meine diesbezüglich angestellten Versuche sind alle negativ ausgefallen, meine Ducrey-Bacillenstämme sind weder auf Agar noch auf Serumagar, ja nicht einmal auf Blutagarplatten gewachsen, die, ohne vor dem Vertrocknen geschützt zu werden, einfach in den Brutofen gestellt wurden. Serra beschreibt die auf gewöhnlichem Schiefagar gediehenen Kulturen als einen „dicken, erhabenen, schmutzigweißen, speckähnlichen, breiigen Ueberzug mit gebuchteten Rändern und meistens höckeriger, selten glatter Oberfläche".

Ebenso, wie diese Beschreibung, muß uns das positive Impfresultat im Gelatinestich und auf der Gelatineplatte befremden. Das Fortkommen so empfindlicher und nach übereinstimmender Angabe sämtlicher Autoren schwer züchtbarer Keime bei 20° ist ein Ergebnis, das mit den Resultaten aller anderen Untersucher nicht in Einklang gebracht werden kann. Auch die mit solchen Kulturen an gesunden Menschen erzeugten Impfgeschwüre scheinen nach ihrer klinischen Beschreibung und ihrem Verlaufe keine typischen Ulcera mollia gewesen zu sein, denn die in den Versuchsprotokollen so oft verzeichnete Spontanheilung ist bei einem weichen Schanker ein immerhin seltenes Ereignis.

In den folgenden Zeilen nun möchte ich einiges mitteilen:

1) über die Art der Plattenzüchtung des Streptobacillus,

2) über das Aussehen der Plattenkolonie,

3) über das mikroskopische Bild der in Gelatine eingeschlossenen ungefärbten Klatschkolonie,

4) über die feinere Struktur eines solchen in toto ans Deckglas fixierten und gefärbten Klatschpräparates. —

Es ist eine schon lange von Klinikern hervorgehobene Eigenschaft des Ulcus molle, gerade an jenen Stellen am hartnäckigsten der Behandlung zu trotzen, die infolge ihrer verborgenen Lage besonders feucht und abgeschlossen sind. Ein klassisches Beispiel hierfür ist das schon erwähnte Ulcus der Portio vaginalis.

Gestützt auf diese Tatsache, habe ich versucht, Streptobacillenplattenkulturen in feuchter Kammer zu züchten. Der technische Vorgang gestaltet sich sehr einfach. Der Boden einer gut schließenden Glasdose, in welcher 4—6 Petrische Schalen bequem Platz finden, wird mit einer dünnen Schicht Watte oder Filtrierpapier bedeckt. Nach Durchtränkung dieses Belages mit sterilem Wasser werden die Kaninchenblutagarplatten zur Probe hineingestellt und durch 48 Stunden im Brutofen beobachtet. Eventuell aufgehende Kolonieen lassen sich mit dem Spatel leicht ausschneiden.

Hierauf beschickt man einige dieser Platten mit Ducreybacillenhaltigem Kondenswasser vorher infizierter Schiefagarröhrchen, welches selbstverständlich auch andere Keime enthalten kann. Geschwürseiter direkt auf Platten zu übertragen, ist deshalb nicht ratsam, weil Streptobacillen in der ersten Generation nur schlecht auf festem Nährboden gedeihen.

Alle vor dem 2. Tage sichtbar werdenden Kulturen sind Verunreinigungen. Erst am 3. Tage erscheinen kleinste, bis hirsekorngroße, anfänglich nicht konfluierende Pünktchen. Sie wachsen in den folgenden Tagen bis zu 2 mm im Durchmesser heran und sind leicht über dem Nährboden erhaben. Anfänglich zeigen sie Kugelform, später sinkt der Scheitel der Kalotte etwas ein, so daß ein kleines gedelltes Plättchen an deren Stelle tritt. Hat man eine große Menge in Reinkultur ausgesät, so bleiben die Kolonieen im Zentrum des Impfstriches gegenüber den peripher gelegenen im Wachstum zurück; es entsteht das Bild eines gekerbten Bandes, wie es für Gonokokken als charakteristisch beschrieben wird. Im auffallenden Lichte sind die Kulturen fast vollständig farblos, intensiv schleimig glänzend, im durchfallenden zeigen sie auf dem roten Hintergrunde einen grauweißen Farbenton (Fig. 1).

Ferner verändern Ducrey-Bacillen den Blutnährboden in keiner Weise. Sie bewirken weder Hämolyse noch Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin.

Die Anwesenheit fremder Keime hingegen gibt sich oft schon durch Braunfärbung der Blutagarplatte kund.

Die Kolonieen lassen sich leicht auf dem Nährboden verschieben, jedoch schlecht abheben, da sie nur wenig an der Nadel haften. Versucht man, ein kleines Partikelchen auf dem Deckglas zu zerreiben, so gelingt dies schwer, weil die einzelnen Ketten innig miteinander verflochten und verfilzt sind. Ein solches, in gewohnter Weise angefertigtes Deckglaspräparat zeigt kleinste, dünne, gramnegative Stäbchen, welche selten die charakteristische Lagerung erkennen lassen. Die fadenförmigen Bakterienverbände sind durch das Aufschwemmen in einem Wassertropfen zerrissen worden; die Bacillen, nebeneinander, hintereinander, oft auch in Winkelstellung gruppiert, nehmen den Farbstoff in verschiedener Weise an, manche scheinen intensiv tingiert, andere wieder bipolar, nach Art der Pestbacillen, gefärbt. Mitunter sieht man, besonders in älteren Kolonieen, lange, ungegliederte Fäden, die in continuo in eine gegliederte Kette übergehen können.

Alle Versuche, die isoliert liegende Kolonie direkt auf der Blut-

agarplatte zu mikroskopieren, scheiterten an der vollständigen Undurchsichtigkeit dieses Nährbodens. Auch das Uebertragen mit dem Platinspatel auf einen durchsichtigen Hintergrund erwies sich als unmöglich, da das natürliche Gefüge hierbei vollständig vernichtet wurde.

Nun habe ich bereits eine Eigenschaft der Streptobacillenkolonie erwähnt, die auf dem fehlenden Tiefenwachstum beruht; wenn es aber möglich ist, die einzelne Kolonie auf der Unterlage zu verschieben, mußte es auch gelingen, Klatschpräparate herzustellen, die ich in folgender Weise gewann:

Ein gut gereinigtes Deckglas wird vorsichtig auf eine isolierte Kultur gelegt und rasch abgehoben; der Streptobacillenverband haftet in toto und läßt sich unversehrt abklatschen. Man bringt einen Tropfen verflüssigter Gelatine auf einen Objektträger und schließt in denselben das Präparat ein. Will man es einige Zeit hindurch aufbewahren, so empfiehlt es sich, den Rand des Deckglases mit Paraffin zu umgießen. Die nunmehr in einem durchsichtigen Medium suspendierte Kolonie ist der mikroskopischen Untersuchung ohne weiteres zugänglich.

Sie zeigt im durchfallenden Lichte eine leicht gelbliche Eigenfarbe, das Zentrum etwas dunkler als die peripheren Partieen. Der Bakterienhaufen scheint an seiner Oberfläche granuliert, seine Grenzkontur wird nicht von einer scharfen Linie gebildet, sondern verläuft eigentümlich unscharf, wellenförmig geschlängelt.

Ueber die feineren Details gibt uns die Beobachtung in Dunkelfeldbeleuchtung Aufschluß. Nach vollständiger Abblendung der zentralen Strahlen sehen wir die Kolonie als eine hell aufleuchtende, weiße Kugel, die sich plastisch von dem tiefschwarzen Hintergrunde abhebt. Deutlich erkennt man ihre Zusammensetzung aus feinsten, innig miteinander verflochtenen Fäden, welche sich gegen den Rand zu in gewundene, scheinbar in die Umgebung kriechende, streptothricheenähnliche Gebilde auflösen. Wurde die Klatschkultur des Milzbrandbacillus mit einem Lockenhaupt verglichen, so ähnelt dieses Bild wohl am meisten einem aus dünnster Seide gewickelten Knäuel (Fig. 2).

Der Aufbau eines solchen Streptobacillenverbandes kann auch am gefärbten Klatschpräparate studiert werden.

Die auf die angegebene Art an das Deckglas übertragene Kolonie läßt man lufttrocken werden und fixiert sie in der Flamme. Mit Fuchsin gefärbt, scheint sie im Zentrum tief dunkelrot, ohne Struktur, fast homogen. Während der Kern des Knäuels als formloser Farbenklex sich darstellt, zersplittert in den Randpartieen das dichtgeflochtene Gefüge in dünnste zartgegliederte Ketten, die untereinander arabesken- und guirlandenförmig verschlungen sind (Fig. 3). Auffallend ist das Vorkommen scheinbar isolierter Bacillenverbände, die mit der Mutterkolonie nicht zusammenhängen. Da dem Ducreyschen Bacillus jegliche Eigenbewegung mangelt, müssen wir uns vorstellen, daß eben jene Kettenglieder, welche die abseits liegenden Fäden mit der Mutterkolonie verbanden, bei der Anfertigung des Klatschpräparates am Nährboden haften blieben.

Ergebnisse.

Der Streptobacillus des Ulcus molle wächst auch gut auf Kaninchenblutagarplatten, wenn dieselben in feuchter Kammer gehalten und auf diese Weise vor dem Austrocknen geschützt werden.

Dieses Verfahren erleichtert wesentlich die Isolie-

rung des Ducreyschen Bacillus aus dem Eiter des weichen Schankers.

Die wachsartig glänzenden, weißlich grauen Kolonieen besitzen kein Tiefenwachstum und lassen sich leicht auf dem Nährboden verschieben.

Da die einzelnen Bacillenverbände an der Unterlage nicht festhaften, können sie durch Auflegen eines Deckglases in toto abgeklatscht werden.

Solche Klatschpräparate — teils nativ in Gelatine eingeschlossen, teils durch Hitze fixiert und dann gefärbt — ermöglichen uns in einwandfreier Weise, den mikroskopischen Aufbau der Streptobacillenkolonie zu erkennen.

Literaturverzeichnis.

Babes, Der weiche Schanker. (Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1903).

Besançon, Griffon und le Sourd, Recherche sur la culture du bacille de Ducrey. (Annal. de Dermatol. et Syph. 1901.)

Ducrey, Experimentelle Untersuchungen über den Ansteckungsstoff des weichen Schankers und über die Bubonen. (Monatshefte f. prakt. Dermatol. 1889. No. 9.)

Istamanoff und Aspianz, Protokoll der Kais. Kaukas. Med. Gesellsch. 1. Dez. 1897. No. 10.

Krefting, Ueber die für Ulcus molle spezifische Mikrobe. (Arch. f. Derm. u. Syph. 1892. Supplementband.)

Lenglet, Note sur le bacille de Ducrey et sur les milieux humanisés. (Annal. de Dermatol. et Syph. 1901.)

Lipschütz, Klinische und bakteriologische Untersuchungen über das Ulcus venereum. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXVI. p. 209.)

Serra, Untersuchungen über den Bacillus des Ulcus molle. (Dermatol. Zeitschr. 1907. Heft 5 und 6.)

Tomaczewsky, Bakteriologische Untersuchungen über den Erreger des Ulcus molle. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903.)

Zeissl, Ueber den gegenwärtigen Stand der Erkenntnis des Schankergiftes. (Wiener klin. Wochenschr. 1896. No. 2.)

Erklärung der Abbildungen.

1) Ducreybacillenkolonieen (III. Generation), 4 Tage alt, gezüchtet auf Kaninchenblutagarplatten. Nat. Gr.

2) Ducreybacillenkolonie, Klatschpräparat, nativ eingeschlossen in Gelatine. Mikrophotogramm bei Dunkelfeldbeleuchtung (fec. Hinterberger). Vergr. 120. Der Bacillenverband ist leuchtend weiß auf schwarzem Hintergrunde, seine Struktur ist besonders deutlich in den Randpartieen ersichtlich.

3) Ein solches Klatschpräparat, in der Flamme fixiert, nach der Gramschen Methode mit Fuchsin nachgefärbt. (Oelimmersion.) Vergr. 950.

Stein, *Plattenkultur der Streptobacillen des Ulcus molle.*

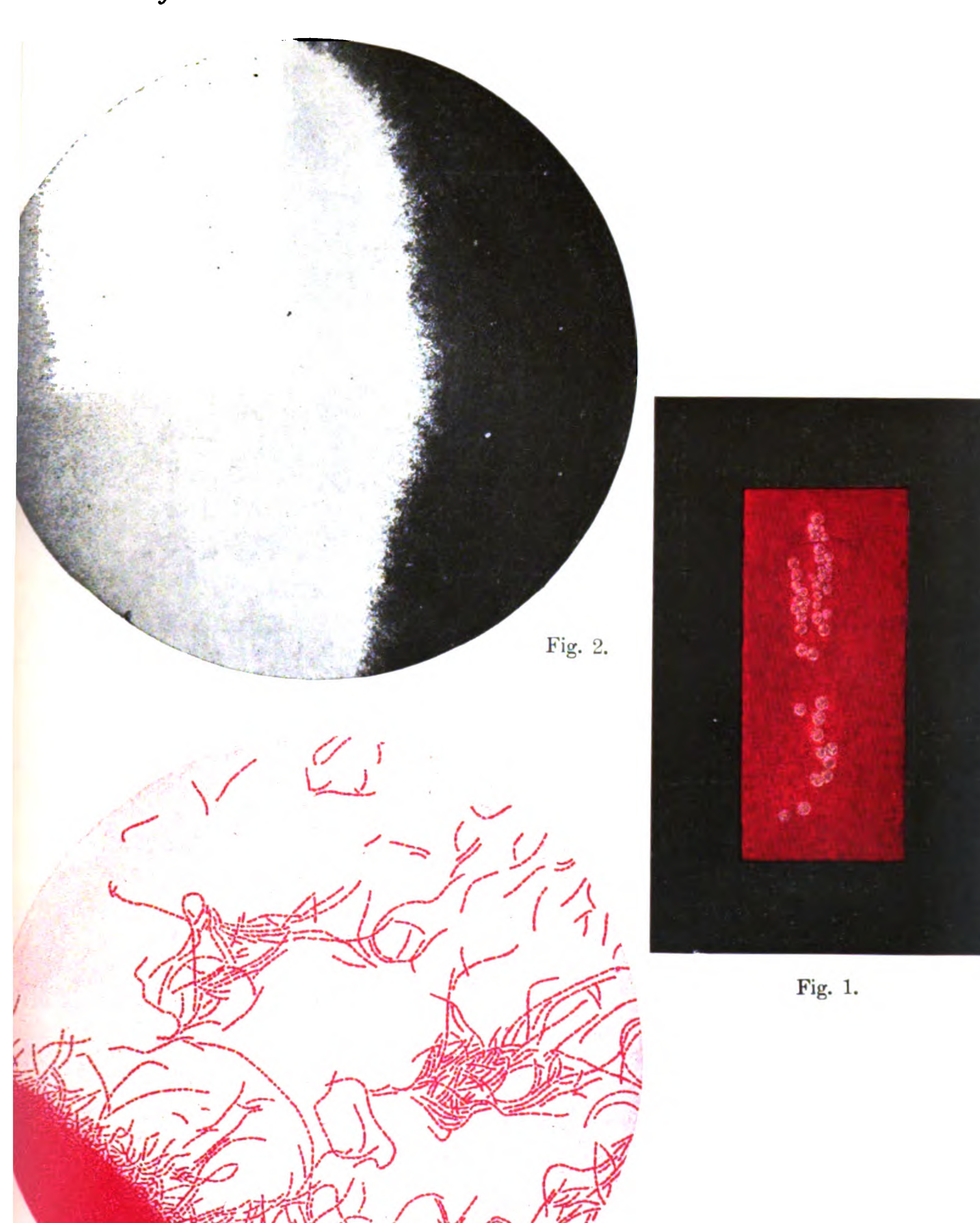


Fig. 2.

Fig. 1.

Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Nachdruck verboten.

Eine spontane Streptokokkenepidemie unter weissen Mäusen.

[Aus dem hygienischen Institut der k. k. Universität Innsbruck (Vorstand: Prof. Lode).]

Von stud. phil. **Fritz Kutschera.**

Streptokokken als Entzündungs- und Eiterungserreger treten beim Menschen häufig auf. Bei Tieren sind solche Fälle verhältnismäßig viel seltener nachgewiesen und in der Literatur beschrieben worden, was wohl zum Teil darauf zurückzuführen ist, daß die Eiterungen der Tiere noch wenig untersucht wurden.

Hauptsächlich sind es Pferd und Rind, bei denen in lokalen eitrigen Affektionen Streptokokken gefunden wurden.

So sind für die Brustseuche (Druse) der Pferde Streptokokken als Krankheitserreger festgestellt worden [1]).

Casper [2]) findet Strept. pyogenes als Ursache eines eitrigen Ekzems bei Pferden, wobei die Infektion durch Anbinden des Mastdarmthermometers am Schweife hervorgerufen wurde.

Auch beim Rinde wurden von mehreren Autoren [3]) Erkrankungen des Euters und die damit zusammenhängende Veränderung der Milch Streptokokken zugeschrieben. Diese Mikroorganismen kommen im Harn der Rinder vor und sollen durch die Unreinlichkeit beim Melken von Tier zu Tier übertragen werden.

Auch für das in manchen Gegenden epidemisch auftretende „Kälbersterben“ [4]) wurden neben anderen Mikroorganismen Streptokokken als Ursache angegeben.

Lucet [5]), der 41 Fälle von Wundverletzungen an verschiedenen Körperstellen des Rindes untersuchte, findet „Strept. pyog. bovis“ 9mal allein ohne andere Mikroorganismen als Eitererreger.

Olt [6]) führt gewisse Muskelerkrankungen von Schweinen, Schafen, Kälbern und Pferden auf Streptokokken zurück.

Ueber den Rahmen der Haustiere greifen Karlińskis [7]) Untersuchungen hinaus. Er studierte subkutane und an den inneren Organen

---

1) Schütz, Der Streptococcus der Druse der Pferde. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. III. p. 425. — Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. XIII. 1880. p. 27 u. Bd. XIV. 1881. p. 173.) — Sand u. Jensen, Die Aetiologie der Druse. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XIII.) — Poels, Die Mikrokokken der Druse der Pferde. (Fortschr. d. Medizin. Bd. VI. 1888.)

2) Casper, Deutsche tierärztl. Wochenschr. Berlin. 1896.

3) Hess u. Borgeaud, Gelber Galt der Kühe (Mastitis catarrhalis infectiosa). (Ref. hierüber in Baumgartens Jahresber. 1888.) — Nocard u. Mollereau, Sur une mammite contagieuse des vaches laitières. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1888.) — Klein, Ueber zwei neue pyogene Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. p. 417.)

4) Van de Velde, Untersuchungen über das Wesen und die Pathogenese des Kalbefiebers. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. XI. 1900.) — Poels, Rapport over de Kalverziekte in Nederland (1899). (Ref. hierüber im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. p. 357.)

5) Lucet, Recherches bactériologiques sur la suppuration chez les animaux de l'espèce bovine. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893.)

6) Olt, Die Streptokokken in den Muskeln. (Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. XXIII. 1897. p. 57.)

7) Karliński, Statistischer Beitrag zur Kenntnis der Eiterungserreger bei Menschen und Tieren. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. p. 113.)

gelagerte Abscesse, die er beim Abbalgen und Auswaiden von Tieren fand. Interessant sind diese Untersuchungen, weil sie Tiere des Waldes und Feldes in den Kreis der Betrachtung ziehen, und auch Vögel, bei denen die Abscesse meist an der Hals- und Schnabelgegend auftraten, zum Gegenstand haben. Karliński findet Strept. pyogenes bei Säugern 23mal, bei Vögeln in 11 Fällen.

Bei diesem ziemlich beschränkten Auftreten von Streptokokken als Krankheitserreger bei Tieren scheint es gerechtfertigt, einer spontanen Streptokokkenepidemie, die im Herbst 1907 unter den weißen Mäusen des hygienischen Institutes in Innsbruck ausbrach und viele Opfer forderte, einige Worte zu widmen.

Die Epidemie brach Ende September 1907, ohne daß zu jener Zeit im Institut mit Streptokokken gearbeitet wurde, in einem Käfig (aus Holz mit Glasdeckel) aus und griff bald auf andere Käfige über.

Während des Oktobers wurden 14 Tage hindurch fast täglich 1 bis 3 Mäuse tot aufgefunden. Schon einige Tage vor dem Absterben krochen die Tiere nur langsam umher, zeigten verklebte Augen, gesträubtes Haarkleid und raschere Respirationsbewegungen.

Die Sektion zeigte in den meisten Fällen Milz und Nieren angeschwollen. Bei einigen Tieren war die Milz auf das Drei- bis Vierfache der normalen Größe angewachsen und mit gelben, stecknadelkopfgroßen Abscessen durchsetzt.

Die jüngeren Tiere waren abgemagert, ältere zeigten trotz längerer Krankheitsdauer ziemlich reichlichen Fettansatz.

Es wurden etwa 30 Mäuse seziert und bakteriologisch untersucht.

Die meisten Kulturen wiesen auf eine Doppelinfektion hin, es wuchsen zweierlei Kolonieen: Zarte, durchscheinende, punktförmige — Streptokokken, wie die weitere Untersuchung zeigte — und derbere, kreisrunde, weißliche Kolonieen, die nach 24 Stunden bei 37° auf Agar ca. 1 mm Durchmesser hatten — Staphylokokken.

Die Ausstrichpräparate aus Leber, Niere, Milz, Herz und Knochenmark des Oberschenkels, mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen gefärbt, ließen eine Unterscheidung der beiden Mikroorganismen nach dem mikroskopischen Bild kaum zu. Man sah nur einfache Kokken in größerer oder geringerer Masse, auch Doppelkokken, manchmal von einem hellen Hof umschlossen, kurze Kettchen von 3—4 Gliedern waren nur selten zu beobachten.

Mikrotomschnitte durch eine stark geschwollene, mit Abscessen durchsetzte Milz machten eine genauere morphologische Unterscheidung und Lokalisierung der Mikroorganismen im erkrankten Organ selbst besser möglich.

Staphylokokken und Streptokokken nahmen die Gramfärbung an, letztere färbten sich etwas intensiver.

Traf der Schnitt einen Absceßherd, so sah man massenhaft Kokken extra- und intracellulär gelagert, ging der Schnitt durch eine vom Eiterherd freie Partie des Gewebes, so konnte man an den kurzen Kettchen die Diagnose auf Streptokokken stellen.

In alkalischer Fleischwasser-Peptonbouillon bildeten sich nach 24 Stunden (37°) weißliche, stecknadelkopfgroße Konglomerate auf dem Grunde des Röhrchens, wobei die Flüssigkeit nur wenig getrübt erschien. Die Präparate aus solchen Kulturen zeigten kurze Kettchen mit nicht über 8 Gliedern neben unregelmäßigen Haufen.

Nach der Probe von v. Lingelsheim[1]) wäre der untersuchte Streptococcus als „brevis" zu bezeichnen, da schon nach 1-tägigem Wachstum im Brutofen (37°) eine Grünfärbung des mit indigsulfosaurem Natron blau gefärbten Agars in der Stichkultur auftrat.

In Pepton-Traubenzuckerbouillon nach v. Lingelsheim bildete der untersuchte Streptococcus längere Ketten.

Die Tierversuche ergaben folgendes:

Wurden gesunde, weiße Mäuse mit Organstückchen kranker Tiere subkutan infiziert, so starben sie nach 1—2 Tagen. Kulturen und Präparate ergaben den gleichen Befund, wie bei spontan erkrankten Tieren. Zu Absceßbildungen kam es infolge der kurzen Krankheitsdauer nicht.

Weitere Tierversuche wurden mit Reinkulturen der Streptokokken ausgeführt.

Bouillonaufschwemmungen (0,5—1 ccm), mit der Spritze subkutan am Rücken injiziert, töteten weiße Mäuse nach 2—3 Tagen.

Die Virulenz zeigte auch nach 6-facher Tierpassage (Tier-Schrägagar) keine Abschwächung.

Ausstrichpräparate der mit Reinkulturen infizierten Tiere zeigten keine Kapselbildung um die seltener auftretenden Diplokokken, dafür traten Kettchenbildungen häufiger auf.

Auch für Kaninchen erwies sich der Streptococcus als pathogen.

Dem einen Tier wurde Leber einer mit Reinkulturen getöteten Maus unter die Haut des Rückens eingeschoben. Es starb nach 3 Tagen. Der Sektionsbefund ergab, daß die teilweise nekrotische Haut an der Injektionsstelle livid verfärbt war.

Schnitt man an dieser Stelle ein, so sah man einen mit nekrotischen Gewebefetzen erfüllten Balg, der die Muskulatur in weiter Umgebung blutreich erscheinen ließ. Auf Peritoneum, Darm und Hoden fanden sich punktförmige Hämorrhagieen.

Ein anderes Tier wurde mit Bouillonaufschwemmung (1,5—2 ccm) subkutan am Bauche infiziert. Auch dieses Tier verendete nach 3 Tagen. Bei der Sektion fand sich fester, käsiger Eiter an der Injektionsstelle; von ihr ausgehend erschien der ganze Bauch gerötet. Die Milz war etwas angeschwollen, am Darm traten Hämorrhagieen auf.

Eine mit Bouillonaufschwemmung (1—1,5 ccm) subkutan am Rücken infizierte weiße Ratte starb nach 3 Tagen. Meerschweinchen waren refraktär.

Niemals konnten aus den mit Reinkulturen infizierten Tieren Staphylokokken gezüchtet werden.

Wir sprechen demnach die von uns beobachtete Mäuseepidemie als eine Mischinfektion an, bei welcher Streptokokken und Staphylokokken zusammenwirkten. Quantitativ überwogen aber stets die ersteren.

Die Seuche war ziemlich hartnäckig und erlosch erst nach mehrwöchentlicher Dauer, nachdem die Käfige mehrmals desinfiziert und die erkrankten oder seucheverdächtigen Tiere sorgsam entfernt worden waren.

1) v. Lingelsheim, Ueber die pathogenen Eigenschaften verschiedener Streptokokken. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. X.)

Beitrag zur Biologie des Erregers der Kälberruhr — Colibacillosis.

Von **Kurt Neumann**,
Assistent am bakteriologischen Institut der Serum-Gesellschaft m. b. H. Landsberg a. W.

Durch den Leiter des bakteriologischen Instituts der „Serum-Gesellschaft m. b. H.“, Herrn Direktor Dr. Schreiber, wurde mir die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, ob sich bei den Kälberruhrcolistämmen, wie sie im Institute gehalten und gezüchtet wurden, Veränderungen in ihrer Virulenz oder in ihrer Stammverschiedenheit (d. i. der Eigenschaft eines Stammes, daß ein mit ihm hergestelltes Serum einen heterologen Stamm nicht oder nicht so stark, wie ihn selbst beeinflußt) nachweisen ließen.

Die Kälberruhrcolistämme, die im hiesigen Institute aus den Organen getöteter oder gestorbener Kälber gezüchtet waren, wurden zur Immunisierung von Pferden zwecks Herstellung eines „polyvalenten“ oder besser „multipartialen“ Kälberruhrserums benutzt. Sie wurden auf Gelatine, Pferdefleischbouillon, Agar und Milch abwechselnd umgestochen und passierten zwecks Erhaltung ihrer Virulenz von Zeit zu Zeit Meerschweinchen und Mäuse.

Die Erledigung der Frage, ob durch diese Behandlung der Kälberruhrkulturen eine Veränderung in dem angeführten Sinne eintreten kann, hat theoretisches Interesse von allgemeiner Bedeutung; daneben liegt für Institute, die sich mit der Herstellung des Kälberruhrserums befassen, ein praktisches Interesse vor, über diese Frage im klaren zu sein, weil es hier darauf ankommt, die zur Immunisierung benutzten Stämme einerseits möglichst virulent und immunisierungstüchtig, andererseits aber auch original zu erhalten. Man mußte darauf bedacht sein, die Virulenz nicht durch Züchtung auf relativ ungeeigneten Nährböden frühzeitig erheblich herabzusetzen und die Stämme durch Tierpassagen möglichst auf keine anderen Tiere als das Kalb einzustellen; denn mit der Veränderung der Eigenschaften der Kälberruhrbakterien geht auch eine Veränderung der Eigenschaften des mit ihnen hergestellten Serums einher, was vermieden werden mußte. Es durften also nicht durch stete Passage durch artfremde Tiere, wie es unsere Laboratoriumstiere den Kälbern gegenüber sind, die Kälberruhrstämme nur für diese Tiere eingestellt werden, da sie damit ihre Eigenschaft als Erreger „der Kälberruhr“ allmählich verloren hätten. Wenn es überhaupt möglich war, Kälberruhrbakterien durch Passage zu verändern, so mußte angenommen werden, daß durch gleiche Passagebehandlung der Kulturen diese Veränderung auch im gleichen Sinne für die verwendeten Kulturen erfolgen würde, d. h. mit anderen Worten: wenn es möglich war, die Kälberruhrbakterien durch gleichmäßige Züchtungen und Passagen zu verändern, dann mußten sie ihre Stammverschiedenheit, die ihnen als Coli und Kälberruhrcoli eigentümlich war, verlieren. Hierüber Aufklärung zu schaffen, war der Zweck meiner Arbeit.

Ich führte zunächst eine Reihe von Versuchen aus, die das Verhalten der Kälberruhrcolistämme auf Nährboden zum Gegenstand hatten; doch da eine Veränderung der Stammeseigentümlichkeit der Kälberruhrbakterien bei der Züchtung auf den üblichen Nährböden (von Virulenzveränderungen

abgesehen) von vornherein nicht zu erwarten war, blieb es meine Hauptaufgabe, zu untersuchen, ob und welche Veränderungen der Stammverschiedenheit bei Passagebehandlung durch den Tierkörper entständen.

A. Virulenz.

I. Untersuchung des Verhaltens der Kälberruhrstämme bei „Passagen“ durch Nährböden.

Ob es möglich ist, durch schnelles Hindurchschicken von Coli-Bakterien durch die üblichen künstlichen Nährböden eine Virulenzsteigerung zu erhalten, darüber fand ich weder in der medizinischen Literatur für das normale oder virulente Bacterium coli commune des Menschen noch in der veterinär-medizinischen Literatur für normale oder virulente Coli-Bakterien der Tiere Angaben.

Es ist ja bekannt, daß die verschiedensten Einflüsse auf die Virulenz eines Bakteriums einwirken können, ich erinnere nur an die Abschwächung der Virulenz durch Züchtung bei Temperaturen, die zwischen der optimalen und der keimtötenden liegen, ferner durch exquisit hohe Temperaturen, durch gleichzeitige Einwirkung erhöhter Temperatur und erhöhten Druckes [Wossnessensky (1), Chauveau (2)]. Man erreichte ferner eine Virulenzabschwächung durch Einwirkenlassen des Tageslichtes [Arloing (3)], durch Austrocknung [Pasteur (4)], durch Züchtung auf Nährböden, denen Stoffe zugesetzt sind, die erfahrungsgemäß die Virulenz herabmindern: z. B. die Züchtung des Tuberkelbacillus auf glycerinhaltigen Nährböden und des Milzbrandbacillus auf Karbolsäurenährböden [Chamberland und Roux (5)].

Es ist ferner nachgewiesen [E. Friedberger (6)], daß selbst bei Verwendung von Nährböden, die in ihrer Zusammensetzung den Substraten am meisten entsprechen, auf denen die betreffenden Bakterien ihr natürliches Fortkommen finden, doch mit der Zeit, auch wenn man durch häufiges Umstechen die Möglichkeit einer Erschöpfung des Nährbodens und der Bildung schädlicher Stoffwechselprodukte ausschließt, eine Virulenzabnahme eintritt. So kann man den Diphtherie- und den Rotzbacillus durch eine wenige Generationen dauernde Züchtung auf den günstigsten Nährböden seiner Virulenz berauben. Friedberger (l. c.) erklärt diese Erscheinung damit, daß „die ursprünglich parasitisch veranlagten Bakterien sich allmählich an eine saprophytische Lebensweise anpaßten“.

Eine Virulenzsteigerung erreichte Chauveau (l. c.) durch Züchtung auf künstlichen Nährböden z. B. für den Milzbrandbacillus.

Was nun die Virulenz des Bact. coli commune des Menschen anbelangt, so sagen Escherisch und Pfaundler (7), daß sie bei künstlicher Züchtung des Bakteriums auf den gewöhnlichen Nährböden nach dem übereinstimmenden Urteile aller Autoren vermindert werde, so daß die Kulturen allmählich [Rodet und Roux (8)] avirulent werden können. Die Virulenz ist stets bei frischer Züchtung aus dem Krankheitsherde am größten. Vallet (9) fand eine Virulenzsteigerung beim Bact. coli commune bei Züchtung auf keimfrei filtrierter Abortjauche und auf gärenden Kotmassen; die Viruleszierung könne so weit gehen, daß das Bact. coli beim Menschen Typhus erzeuge. Eine Virulenzsteigerung des „normalen“ Bact. coli beim Wachstum auf verunreinigtem Wasser beobachtet zu haben, geben Gilbert und Girode (10) an, Demel und Orlandi (11) fanden eine Virulenzsteigerung des Bact.

coli humanum durch längerdauernde Züchtung auf einem Nährboden, der aus Bouillon und Magensaft zusammengesetzt war. Auch ließ sich bei künstlicher Züchtung eine Virulenzsteigerung mit einiger Sicherheit dadurch erzielen, daß man eine Symbiose mit Strepto- oder Staphylokokken [Vidal und Besançon (12), Nobécourt (13), Caro (14)] oder mit Bact. typhi [Agrò (15)] bewerkstelligte.

Ueber eine Virulenzsteigerung des wichtigsten Erregers der Kälberruhr, des Bact. coli vitulorum, fanden sich in der Literatur, soweit künstliche Nährböden in Betracht gezogen wurden, keine Angaben.

Ich versuchte eine Virulenzsteigerung dadurch zu erreichen, daß ich Nährböden wählte, die für ein üppiges Wachstum der Versuchsstämme günstig waren und die in ihrer Zusammensetzung den tierischen Säften nahe standen: Milch und Rindfleischextraktgelatine.

Die Milch wurde möglichst steril aufgefangen, 15 Minuten gekocht, dann abgekühlt, filtriert, in Reagenzgläschen abgezogen und zweimal 15 Minuten lang auf 90° erhitzt.

Die Gelatine wurde folgendermaßen zubereitet: Eine bestimmte Menge Rindfleisch wurde zerkleinert, im Verhältnis 1:2 mit Wasser versetzt und 24 Stunden mazeriert. Dann wurde 1 Proz. Pepton, 1/2 Proz. Kochsalz und 12 Proz. Gelatine zugesetzt, 1/2 Stunde durch Kochen sterilisiert, durch Sodazusatz bis zum deutlichen Phenolphthaleinneutralpunkt neutralisiert, abgekocht, dann abgekühlt und nach Zusatz von 0,4 Proz. Eiweiß nochmals 1 Stunde gekocht, dann wurde das Präparat durch ein doppeltes Filter filtriert, in Röhrchen abgezogen, sterilisiert und abgekühlt.

Bevor ich jedoch zur Beschreibung der angedeuteten Versuche übergehen kann, muß ich auf die Beschreibung der von mir benutzten Versuchsstämme näher eingehen. Die Auswahl wurde nicht auf das Geratewohl getroffen. Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. G. Neumann, der mir einige Resultate einer damals noch nicht veröffentlichten Arbeit, die er im hiesigen Institute erledigte (16), zur Verfügung stellte, war ich in die Lage versetzt, von vornherein aus seinen vergleichenden Agglutinationsversuchen einige Schlüsse zu ziehen.

Ich wählte, um Verschiedenheiten unter den Stämmen untereinander zu haben, zwei Stämme aus, deren Sera sich (bei G. Neumann) gegenseitig agglutinierend beeinflußten, einen Stamm, der von den Seris der drei übrigen Versuchsstämme nicht mitagglutiniert wurde und einen, den vierten Stamm, der von einem anderen Stamm agglutiniert wurde, ohne daß sein eigenes Serum diesen anderen Stamm agglutiniert hätte.

Ich werde die 4 benutzten Stämme mit A, B, C und D bezeichnen und eine genauere Beschreibung derselben folgen lassen.

Die Stämme sind von G. Neumann (l. c.) mit Ausnahme vom Stamm C biologisch untersucht worden und ich kann darum auf die gefundenen Resultate, aus denen hervorgeht, daß es sich um echte Kälberruhrcolibacillen handelt, verweisen.

Stamm A war, wie ich den Institutsprotokollen entnehme, aus einem Kalbe (eingesandt von St. in K.) am 23. Febr. 05 isoliert worden. Es waren einige Virulenzprüfungen angestellt worden, die ich der zeitlichen Reihenfolge nach hier anführe.

Tabelle I.

Datum	Versuchstiere	Impfdosis	Art der Einverleibung	Resultat
28. Febr. 05	1 Mn.	0,01	ip.	† $^{3}/_{4}$
23. Jan. 06	1 „	0,01	„	lebt
6. Juli 06	1 „	0,05	„	† 1
14. Aug. 06	1 „	0,01	„	† 1
31. Aug. 06	1 „	0,001	„	† 2
31. Dez. 06	1 „	0,01	„	† 3
3. April 07	2 graue Mse.	0,01	subk.	a † 3, b lebt

Anmerkung: Es sind in dieser Tabelle und im folgenden Abkürzungen gebraucht, die einer näheren Erklärung bedürfen.

Mn. = Meerschweinchen.

Ms. (Mse.) = Maus (Mäuse).

Kn. = Kaninchen.

Die verimpften Serum- oder Kulturmengen sind in Kubikcentimetern als Einheit angegeben.

ip. = intraperitoneal.

subk. = subkutan.

P. = Passage.

† = tot; die Zahl hinter dem Kreuz bedeutet die Zeit in Tagen, welche von der Infektion bis zum Tode verstreicht.

St. = Stamm.

Stamm B wurde am 1. April 05 aus der Milz eines erkrankten und gestorbenen Kalbes des Dominiums P. in Posen isoliert. Das Tier war vorher mit Septicidin geimpft und starb am 3. Tage nach der Geburt unter Ruhrerscheinungen. (Angabe des Besitzers.) Es waren in diesem Gehöfte eine große Anzahl von Kälbern gestorben. St. B wurde mit zur Herstellung des polyvalenten sive multipartialen Kälberruhrserums benutzt. Nach Impfung mit diesem Serum trat die Krankheit auf dem betreffenden Gute nicht mehr auf.

Tabelle II (frühere Virulenzprüfungen).

Datum	Versuchstiere	Impfdosis	Art der Einverleibung	Resultat
12. April 05	2 graue Mse.	0,1	subk.	a † 2; b † 5
28. April 05	1 Mn.	0,1	ip.	lebt
25. Jan. 06	1 „	0,5	„	† 1
27. Juni 06	1 „	0,3	„	lebt
30. Juni 06	1 „	0,5	„	† 2
24. Aug. 06	1 „	0,1	„	lebt
30. Okt. 06	1 „	0,5	„	† 1
20. Nov. 06	1 „	0,3	„	† 1
22. Nov. 06	1 „	0,1	„	† 1
24. Nov. 06	1 „	0,05	„	lebt

Stamm C wurde am 25. Nov. 06 aus einem Kalbe des Besitzers K. in M. isoliert. Die Kultur wurde von einem Kälberruhrpferdeserum, das auf dem betreffenden Gute nicht geschützt hatte, bis zu einer Verdünnung von 1 : 1600 stark und deutlich agglutiniert. Die Beurteilung der Agglutination wurde, wie auch in allen später angeführten Versuchen, makroskopisch vorgenommen. Ueber die angewandte Technik will ich an anderem Orte kurz berichten.

Tabelle III (frühere Virulenzprüfungen).

Datum	Versuchstiere	Impfdosis	Art der Einverleibung	Resultat
28. Nov. 06	1 Mn.	0,01	ip.	† 1
28. Nov. 06	2 graue Mse.	0,001	subk.	† 1

Stamm D wurde aus einem 4 Tage nach der Geburt gestorbenen Kalbe des Gutsbesitzers B. in B. dadurch gewonnen, daß man ein Organextrakt (Niere, Milz, Darmlymphdrüsen) in einer Dosis von 0,3 ccm subkutan an 2 graue Mäuse verimpfte (a † $1^1/_2$, b † $2^1/_2$).

Tabelle IV (frühere Virulenzprüfungen).

Datum	Versuchstiere	Impfdosis	Art der Einverleibung	Resultat
20. Juni 06	1 Mn.	0,01	ip.	† 1
13. Sept. 06	1 Kn.	0,01	„	† $^1/_2$
30. Okt. 06	1 Mn.	0,01	„	† 1

Dasselbe Pferdeimmunserum, das zur Agglutination von St. C benutzt war, agglutinierte auch St. D noch in einer Verdünnung von 1:1600. Von 10 auf diesem Gute mit dem angeführten Pferdeimmunserum geimpften Kälbern (10 ccm subkutan injiziert) blieb nur eins am Leben.

Diese 4 Stämme schickte ich 24mal in einer Zeit von 75 Tagen gleichzeitig durch die erwähnten Milch- und Gelatinenährböden. Die Milch gerann in einer Zeit von 16—30 Stunden. Bald brauchte der eine, bald der andere Stamm mehr Zeit, um die Milch zum Gerinnen zu bringen. Eine Gesetzmäßigkeit etwa derart, daß der virulentere Stamm die Milch eher zum Gerinnen brachte als der weniger virulente, ließ sich bei den Gerinnungszeiten nicht nachweisen, was sich dadurch erklären läßt, daß eine Gleichmäßigkeit in der Dosierung beim Umstechen von Milch auf Milch nicht zu erzielen war.

Auf der Gelatine hatten alle 4 Stämme das typische Coli-Wachstum. Unterschiede ließen sich nicht nachweisen. Die Gelatine wurde von keinem Stamm verflüssigt.

Die Virulenz der Stämme wurde vor und nach der Behandlung nach einigen orientierenden Vorversuchen an Meerschweinchen durch intraperitoneale Impfungen festgestellt. Ferner wurden die Anfangskulturen, die in der angegebenen Zeit von 75 Tagen dreimal von Schrägagar zu Schrägagar umgestochen waren, auch nach 75 Tagen auf ihre Virulenz hin in der angegebenen Weise geprüft, um nachzuweisen, ob sie an Virulenz eingebüßt hätten; ein ganz genauer Titre wurde, um Versuchstiere zu sparen, nicht festgestellt, doch lassen sich die Impfungen (Tab. V—VIII) bei Berücksichtigung des Gewichtes der Impftiere, der Zeit zwischen Infektion und Tod und der gegebenen Dosis ganz gut zwecks Bestimmung einer etwaigen Virulenzveränderung vergleichend beurteilen.

Tabelle V (Anfangskulturen vor der „Passage").

Datum	Stamm	Gewicht des Mn. in g	Dosis in ccm	Resultat
21. Juni 07	A	180	0,005	† 3/4
21. „ 07	A	200	0,0001	lebt
21. „ 07	B	200	0,1	† 2 1/2
21. „ 07	B	200	0,01	lebt
21. „ 07	C	220	0,0001	† 3/4
21. „ 07	C	220	0,00001	lebt
21. „ 07	D	250	0,01	† 1/2
21. „ 07	D	250	0,001	lebt

Die Dosis letalis minima lag bei St. A zwischen 0,005 und 0,0001, bei St. B zwischen 0,1 und 0,001, bei St. C zwischen 0,0001 und 0,00001 und bei St. D zwischen 0,01 und 0,001.

Tabelle VI (Anfangskulturen nach 75 Tagen).

Stamm	Gewicht des Mn. in g	Dosis in ccm	Resultat
A	180	0,005	† 3/4
B	180	0,1	† 1/2
C	190	0,0001	† 3/4
D	200	0,005	† 1/2

Es war, wie Tab. VI zeigt, eine Virulenzveränderung nicht zu konstatieren; die 4 Stämme hatten in Anbetracht der kurzen Beobachtungszeit (ca. 3 Monate) an Virulenz nicht abgenommen, was auch von vornherein eben wegen der Kürze der Zeit nicht zu erwarten war. Der Versuch wurde mehr als Vergleichsversuch zu Versuch VII und VIII angestellt.

Wenn man die Ergebnisse aus Tab. V und VI mit den Virulenzprüfungen in den Versuchen I—IV vergleicht, so findet man, daß 3 Stämme (A, B und D) — man kann annehmen, daß die benutzten Versuchstiere sicher nicht kleiner gewesen sind als im Versuch V und VI; die genauen Zahlen waren leider im Protokoll nicht angegeben worden — bei Haltung vorzüglich auf künstlichen Nährböden (Gelatine, Agar, Bouillon und Milch) und zwar St. A in 20 Monaten, St. B in 24 Monaten und St. D in 12 Monaten Beobachtungszeit keine wesentliche Virulenzverminderung zeigten, was mit den Beobachtungen am normalen Darmcoli des Menschen (siehe oben) nicht in Einklang steht.

Tabelle VII (Virulenzprüfungen der Milch-„Passage"-Kulturen.)

Datum	Stamm	Gewicht des Mn. in g	Dosis in ccm	Resultat
25. Juli 07	A	160	0,005	lebt
25. „ 07	B	140	0,1	lebt
25. „ 07	C	185	0,00005	† 1/2
25. „ 07	D	155	0,005	† 1/2

Trotzdem bei St. A und B (Tab. VII) das benutzte Impftier um 40 bezw. 60 g leichter war als bei der Anfangskultur (Tab. V), vermochte dennoch dieselbe Dosis, die seiner Zeit das Impftier in 3/4 bezw. 2 1/2 Tagen tötete, keine Krankheitserscheinungen hervorzurufen. Bei St. C und D war eine Virulenzverminderung nicht zu konstatieren.

Der Versuch ergibt, daß durch öfteres Umzüchten eines Kälberruhrcolistammes durch Milchnährböden seine Virulenz vermindert werden kann.

Tabelle VIII (Virulenzprüfungen der Gelatine-„Passage"-Kulturen).

Datum	Stamm	Gewicht des Mn. in g	Dosis in ccm	Resultat
25. Juli 07	A	185	0,005	† 1
25. „ 07	B	160	0,1	† 1/4
25. „ 07	C	160	0,00005	† 3/4
25. „ 07	D	200	0,005	† 1/2

Aus Tab. VIII ergibt sich, im Vergleich mit Tab. V, daß eine Virulenzverminderung durch die schnelle Umzüchtung auf Gelatine nicht eingetreten war. Die Versuchstiere waren teilweise schneller gestorben als in Versuch V. Da es sich aber in Versuch VIII um Meerschweinchen handelt, die gegenüber denen in Versuch V leichter waren, so kann hieraus eine Viruleszierung der Versuchsstämme durch die Gelatine-„Passage" allein nicht gefolgert werden. Dagegen erlaubt der Vergleich von Versuch VII und VIII, da in beiden Fällen dieselben Dosen gegeben waren und die geimpften Meerschweinchen gleich schwer waren, den Schluß, daß der (vorhin beschriebene) Gelatinenährboden für die Züchtung der Kälberruhrcoli geeigneter ist als der (oben beschriebene) Milchnährboden.

II. Untersuchung des Verhaltens der Kälberruhrstämme bei Tierpassagen.

Daß es möglich ist, durch eine Reihe von Tierpassagen Bakterien in ihrer Virulenz zu verändern, ist seit langem bekannt. Pasteur (17) gelang es, durch Kaninchenpassage den Schweinerotlaufbacillus abzuschwächen, was Smirnow (18) allerdings nicht bestätigen konnte. Pasteur gibt auch an, daß die Abschwächung des Lyssavirus durch Affenpassage möglich sei. Chauveau (19) gibt an, daß der Milzbrandbacillus durch Hammelpassage abgeschwächt würde. Eine Abschwächung des Tuberkelbacillus im Peritoneum des Huhnes wurde von Gramatschikoff (20) konstatiert.

Eine Virulenzerhöhung durch Tierpassage wiesen Czapslewski (21) für den Milzbrandbacillus beim Passieren der Taube, viele andere Autoren für den Choleravibrio und den Typhusbacillus, Kolle und Martini (22) für den Pestbacillus nach. Für das Bacterium coli commune des Menschen gibt Uhlenhuth (23) an, daß es, aus Krankheitsherden gezüchtet, wesentlich virulenter sei als im Darm. Daß eine Viruleszierung für dieses Bakterium durch Tierpassagen eintreten könne, haben Kollmann (24), Cesaris-Demel und Orlando (25) nachgewiesen. Das Typhustoxin soll im Tierkörper zur Viruleszierung des Bact. coli commune beitragen [Sanarelli (26), Neisser (27)]. Im Kollodiumsäckchen, das in die Bauchhöhle von Versuchstieren versenkt wurde, tritt für den normalen menschlichen Darmcoli keine Virulenzsteigerung ein [Rodet und Guéchoff (28)]. Ueber die Art und Weise, wie die Virulenzsteigerung zustande kommen soll, kann man sich bisher keine rechte Vorstellung machen. Sie muß im Wesen der Bacillen begründet sein, da sie nicht allein im Organismus, sondern auch, wie angeführt, außerhalb desselben bei bestimmten Züchtungsmethoden auf künstlichen Nährböden erzeugt wird.

Für den Kälberruhrcolibacillus gab Jensen (29) an, daß es möglich sei, durch Meerschweinchenpassage seine Virulenz zu steigern. Ferner fand Jensen (30) schon im Jahre 1892, daß gewöhnliche Darmcolibacillen des Kalbes, wenn man durch Gaben von Kreolin, Pyoktannin und Jodtrichlorid eine Enteritis erzeugt und die Coli-Bakterien nach ihrem Uebertritte ins Blut isoliert, so an Virulenz gewinnen, daß sie für andere Kälber infektiös wirken. Diesen Versuch konnte Jensen später (31) mit demselben Resultate wiederholen. Poels (32) konnte Jensens Angaben nicht bestätigen; dagegen fiel ein Versuch, durch Gaben von gekochter Milch an neugeborene Kälber während der ersten 24 Stunden eine Enteritis zu erzeugen, positiv aus. Jensen sah diese Tatsache als neuen, sicheren Beweis dafür an, daß die normalen Darmbakterien imstande sind, unter Umständen virulente Eigenschaften anzunehmen und Enteritiden zu erzeugen (33).

Von Interesse für diese Frage nach dem Zustandekommen der Virulenzerhöhung ist namentlich der Befund von Dreyfuss (34), dessen eingehende Untersuchungen dartun, daß die geringe Virulenz des Bact. coli aus dem gesunden Darm Erwachsener durch Herbeiführen von Diarrhöen mittels Rizinusöles nicht gesteigert werde, wohl aber durch die verschiedensten spontanen Erkrankungszustände im Darm. Nach Dreyfuss bestand eine „Kongruenz" zwischen der Schwere der Darmerkrankung und der Virulenz des aus dem Stuhle gezüchteten Coli-Stammes. Dieser Befund ist geeignet, die Angabe von Jensen zu stützen, daß aus dem normalen Coli durch Virulenzsteigerung ein Kälberruhrcoli werden kann.

Es kam für mich darauf an, die Versuche von Jensen, der die Möglichkeit der Virulenzsteigerung bei Kälberruhrcolistämmen durch Meerschweinchenpassage angegeben hatte, an diesem Tiere nachzuprüfen und diese Versuche auf andere kleine Versuchstiere (Mäuse und teilweise Kaninchen) auszudehnen.

1. Meerschweinchenpassage.

Nachdem die Virulenz der 4 Versuchsstämme festgestellt war (Tab. V), schickte ich sie 10mal durch Meerschweinchen. Die Meerschweinchen wurden stets mit der angegebenen (Tab. IX) Verdünnung einer 1-tägigen Bouillonkultur intraperitoneal infiziert. Nach eingetretenem Tode wurde aus dem Herzblut des Versuchstieres jedesmal eine neue Bouillonkultur angelegt und diese an das nächste Passagentier weiterverimpft. Oefters wurde auch die neue Impfbouillon von einem aus dem Herzblute beschickten Schrägagar angelegt. Die Impftiere wurden stets unter gleichen Bedingungen in demselben Raume gehalten, der von Zeit zu Zeit desinfiziert wurde. Da ich schon zum größeren Teile mit relativ hochvirulenten Kulturen arbeitete, so war anzunehmen, daß ich bald an der Grenze der Möglichkeit angekommen sein würde, und es war darum eine erhebliche Herabsetzung der Dosis letalis minima eigentlich nur für einen Stamm, den wenig virulenten Stamm B, zu erwarten, während sich eine Virulenzsteigerung der Stämme A, C und D durch Verkürzung der Zeit zwischen Infektion und Tod anzeigen mußte. Es gelang jedoch, wie ich vorweg nehme, auch bei diesen Stämmen die Dosis letalis minima trotz der schon hohen Virulenz der Stämme noch herabzusetzen.

Tab. IX gibt über die Meerschweinchenpassagen die nötige Auskunft.

Tabelle IX (Meerschweinchenpassage).

Lfde. No.	Datum	St. A Gewicht des Mn.	St. A Dosis	St. A Resultat	St. B Gewicht des Mn.	St. B Dosis	St. B Resultat
1	21. März 07	180	0,005	† $^3/_4$	200	0,1	† $2^1/_2$
2	6. April 07	200	0,01	† $^3/_4$	200	0,1	† $^3/_4$
3	22. „ 07	160	0,01	† $^1/_2$	330	0,1	† $^1/_2$
4	30. „ 07	280	0,01	† $^3/_4$	270	0,1	† $^1/_2$
5	8. Mai 07	150	0,01	† ca. 10 Std.	160	0,1	† ca. 10 Std.
6	16. „ 07	150	0,005	† $^1/_2$	150	0,05	† $^1/_2$
7	23. „ 07	160	0,005	† $^1/_2$	165	0,05	† $^3/_4$
8	20. Juni 07	175	0,005	† $^3/_4$	225	0,05	† 16 Std.
9	26. „ 07	270	0,005	† 20 Std.	260	0,05	† 18 Std.
10	11. Juli 07	145	0,005	† 1	130	0,05	† $^3/_4$

Tabelle IX Fortsetzung (Meerschweinchenpassage).

Lfde. No.	Datum	St. C Gewicht des Mn.	St. C Dosis	St. C Resultat	St. D Gewicht des Mn.	St. D Dosis	St. D Resultat
1	21. März 07	220	0,0001	† $^3/_4$	250	0,01	† $^1/_2$
2	6. April 07	200	0,0001	lebt	200	0,01	† $^3/_4$
			bekommt nach 10 Tagen 0,1	† $^3/_4$			
3	22. „ 07	180	0,001	† $^3/_4$	370	0,01	† $^1/_2$
4	30. „ 07	220	0,001	† $^3/_4$	285	0,01	lebt
						bekommt nach 6 Tagen 0,5	† $^1/_2$
5	8. Mai 07	140	0,001	† 14 Std.	180	0,01	† ca. 10 Std.
6	16. „ 07	150	0,0005	† $^1/_2$	200	0,005	† $^1/_2$
7	23. „ 07	175	0,0005	† $^3/_4$	150	0,005	lebt
						bekommt nach 6 Tagen 0,1	lebt
					190	0,005	† $^1/_2$
8	20. Juni 07	155	0,0005	† 20 Std.	160	0,005	† 22 Std.
9	26. „ 07	180	0,0005	† 30 „	170	0,005	lebt
					150	0,01	† $^1/_2$
10	11. Juli 07	140	0,0005	† 22 „	130	0,005	† 1

Die aus den 4 Passagen erhaltenen Kulturen werde ich im folgenden

A Mn.-P. = Stamm A Meerschweinchenpassage,
B Mn.-P. = Stamm B „ „

usw. bezeichnen.

Da 0,005 des St. A schon vor der Passage ein Meerschweinchen von 180 g tötete (Tab. V), ist aus der Tab. IX für St. A noch keine Virulenzsteigerung zu folgern. Das Gleiche gilt ceteris paribus für St. C und D. Dagegen ist für den St. B aus der Tabelle schon zu ersehen, daß eine Virulenzsteigerung eingetreten ist. Die Zeit zwischen Infektion und Tod nahm bei gleicher Dosis und gleichem Gewicht des Versuchstieres schon in den ersten 3 Passagen von $2^1/_2$ Tagen auf $^3/_4$ Tag ab. Ich setzte jetzt die Infektionsdosis herab, um auch für die anderen 3 Stämme eine eventuelle Virulenzierung nachzuweisen.

Tabelle X.

Datum	St. A Mn.-P. Gew. des Mn.	Dosis	Resultat	Datum	St. B Mn.-P. Gew. des Mn.	Dosis	Resultat
20. Aug.	180	0,0001	† 1½	20. Aug.	230	0,001	† 20 Std.
31. „	200	0,00001	lebt	20. „	250	0,001	† ca. 1½
				31. „	225	0,0001	† ½
				31. „	230	0,0001	† 1½
				5. Sept.	240	0,00001	lebt

Datum	St. C Mn.-P. Gew. des Mn.	Dosis	Resultat	Datum	St. D Mn.-P. Gew. des Mn.	Dosis	Resultat
20. Aug.	200	0,000001	entlaufen	20. Aug.	?	0,00001	lebt
20. „	200	0,000001	† 1	9. Sept.	280	0,001	† ¾
31. „	220	0,0000001	lebt	9. „	275	0,000001	lebt

Vor der Passage konnte mit St. A 0,0001 ein Meerschweinchen von 180 g nicht getötet werden; nach der Passage gelang es, ein gleich schweres Tier in 36 Stunden zu töten.

Vor der Passage blieb ein Meerschweinchen auf die Infektion von 0,01 des St. B am Leben; nach der Passage tötete 0,0001 zwei um ca. 30 g schwerere Meerschweinchen in ½ bezw. 1½ Tagen.

Vor der Passage konnte 0,00001 des St. C ein Meerschweinchen nicht tödlich infizieren; nach der Passage starb ein ungefähr gleichschweres Meerschweinchen auf eine Gabe von 0,000001 in 1 Tage.

Für St. D ließ sich die tödliche Dosis von 0,005 auf 0,001 durch die Passage herabsetzen.

Es zeigt sich hieraus, daß für alle 4 Stämme eine deutliche, zum Teil recht erhebliche Virulenzierung durch die Meerschweinchenpassagen für Meerschweinchen eingetreten war.

2. Mäusepassage.

Jensen (35) hat angegeben, daß sich Mäuse und Kaninchen nicht zu Maßobjekten für den Kälberruhrcoli eignen wegen der Unsicherheit, mit der die tödliche Krankheit auf die Infektion folgt. Nach Poels (l. c.) sind die Kälberruhrcolibakterien bei intraperitonealer Impfung virulent; die subkutane liefere kein sicheres Resultat.

Gleich meine ersten Versuche bestätigen die Angaben von Jensen und Poels: Die Mäuse (Tab. XI—XIV) wurden subkutan mit einer Verdünnung einer 1-tägigen Bouillonkultur infiziert. Aus den gestorbenen Mäusen wurden Kulturen angelegt. Zunächst stellte ich für jeden Stamm Virulenzprüfungen an.

Tabelle XI. (Virulenzprüfungen des St. A auf Mäuse.)

Datum	Impftiere	Dosis	Resultat
13. März 07	2 graue Mse.	0,01	† 1½
13. „ 07	2 „ „	0,02	† 1½
13. „ 07	2 „ „	0,03	† 1½
19. „ 07	2 „ „	0,001	leben
19. „ 07	2 „ „	0,01	a † 2½, b † 4½
19. „ 07	2 „ „	0,1	a † 1½, b lebt

Der Versuch wurde nach 1 Monate in derselben Weise wiederholt. Es starben die 4 Mäuse, welche 0,1 und 0,01 erhalten hatten, in 1½ bis 2 Tagen.

Tabelle XII. (Virulenzprüfungen des St. B auf Mäuse.)

Datum	Impftiere	Dosis	Resultat
13. März 07	2 graue Mse.	0,01	† 2
13. „ 07	2 „ „	0,02	leben
13. „ 07	2 „ „	0,03	a † 2½, b lebt
19. „ 07	2 „ „	0,001	leben
19. „ 07	2 „ „	0,01	† 1½
19. „ 07	2 „ „	0,1	† 1½

Bei Wiederholung des Versuches nach 1 Monat starben nur die beiden Mäuse, welche mit der höchsten Dosis (0,1) infiziert waren.

Tabelle XIII. (Virulenzprüfungen des St. C auf Mäuse.)

Datum	Impftiere	Dosis	Resultat
13. März 07	2 graue Mse.	0,00000001	a † 1, b lebt
13. „ 07	2 „ „	0,0000001	a † 1, b lebt
13. „ 07	2 „ „	0,000001	leben
19. „ 07	2 „ „	0,00000001	a † 1½, b lebt
19. „ 07	2 „ „	0,000001	leben
19. „ 07	2 „ „	0,00001	a † 6, b lebt

Der Stamm zeigte sich, wie ich aus Vorversuchen wußte, viel virulenter als die beiden ersten Stämme A und B. Mäuse, mit 0,00001 infiziert, waren stets in 1 Tag gestorben; ich mußte darum noch geringere Dosen wählen. Nach 1 Monat starb bei einem Wiederholungsversuche, der wie der Versuch vom 19. März 07 ausgeführt war, keine Maus.

Tabelle XIV. (Virulenzprüfungen des St. D auf Mäuse.)

Datum	Impftiere	Dosis	Resultat
19. März 07	2 graue Mse.	0,001	leben
19. „ 07	2 „ „	0,01	† ½
19. „ 07	2 „ „	0,1	† ½

Der nach 1 Monat angestellte Wiederholungsversuch fiel dergestalt aus, daß von jeder Dosis eine Maus starb (in ½ bis 1 Tag) und die andere leben blieb.

Es zeigt sich aus diesen Versuchen, daß allerdings „eine Unsicherheit besteht, mit der die tödliche Krankheit auf die Infektion“ folgt.

Die 4 Versuchsstämme wurden jetzt jeder 11mal hintereinander durch Mäuse geschickt. Zur Impfung wurde wiederum stets eine 1-tägige Bouillonkultur benutzt. Als Impfdosis wurde für die Stämme A, B und D 0,01 ccm und für den Stamm C 0,001 ccm gewählt. Die Impfung geschah subkutan. Aus den gestorbenen Passagemäusen wurde jedesmal eine Agar-, Milch- und Bouillonkultur angelegt und zwar aus dem Herzen. Von der Agarkultur wurde die Impfbouillon für die nächste Passage entnommen.

Tabelle XV. (Mäusepassage.)

Lfde. No.	Datum	St. A		St. B	
		Impftier	Resultat	Impftier	Resultat
1	19. März 07	1 graue Ms.	† $2\frac{1}{2}$	1 graue Ms.	† $\frac{1}{2}$
2	6. April 07	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$
3	12. „ 07	1 „ „	† $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$
4	20. „ 07	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$	1 „ „	† $1\frac{3}{4}$
5	30. „ 07	1 „ „	lebt	1 „ „	† $1\frac{3}{4}$
	4. Mai 07	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$		
6	8. „ 07	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$	1 „ „	† $1\frac{3}{4}$
7	14. „ 07	1 „ „	lebt	1 „ „	† $1\frac{3}{4}$
	19. „ 07	1 „ „	† $\frac{1}{2}$		
8	23. „ 07	1 „ „	lebt	1 „ „	† 2—$2\frac{1}{2}$
	27. „ 07	1 „ „	† $1\frac{1}{4}$		
9	8. Juni 07	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$
10	24. „ 07	1 „ „	† $1\frac{3}{4}$	1 „ „	† $1\frac{3}{4}$
11	26. „ 07	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$	1 „ „	† 1
	5. Juli 07	1 „ „			

Lfde. No.	Datum	St. C		St. D	
		Impftier	Resultat	Impftier	Resultat
1	19. März 07	1 graue Ms.	† $1\frac{1}{2}$	1 graue Ms.	† $\frac{1}{2}$
2	6. April 07	1 „ „	† $\frac{3}{4}$	1 „ „	† $\frac{3}{4}$
3	12. „ 07	1 „ „	† $\frac{3}{4}$—1	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$
4	20. „ 07	1 „ „	† $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$	1 „ „	† $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$
5	30. „ 07	1 „ „	† $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$
	4. Mai 07				
6	8. „ 07	1 „ „	† $\frac{1}{2}$	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$
7	14. „ 07	1 „ „	† 1	1 „ „	† $\frac{1}{2}$
	19. „ 07				
8	23. „ 07	1 „ „	lebt	1 „ „	† $\frac{3}{4}$
	27. „ 07		† $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$		
9	8. Juni 07	1 „ „	† $1\frac{1}{2}$	1 „ „	† $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$
10	24. „ 07	1 „ „	† $2\frac{1}{2}$	1 „ „	† $\frac{1}{2}$
11	26. „ 07	1 „ „	† $\frac{1}{2}$	1 „ „	lebt
					† $\frac{1}{2}$

Eine Virulenzsteigerung der durch die Mäusepassage erhaltenen Kulturen, die ich mit A Ms.-P., B Ms.-P. abkürzen werde, ist aus Tab. IX nicht unbedingt zu folgern. Auffallend ist es, wenn in der 8. Passage 0,001 des St. C die geimpfte Maus nicht zu töten vermochte, während es doch schon möglich gewesen war, eine Maus mit der 100-fach kleineren Dosis prompt zu töten; ja sogar 0,00000001 ccm tötete eine Maus, allerdings nicht mit konstanter Regelmäßigkeit (Tab. XIII). Es ist ferner auffallend, wenn in der 11. Passage plötzlich St. D versagte, zumal er in derselben Dosis die Impftiere meistens in $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Tagen tötete. Man kann daher für die Mäuse annehmen, daß einige unter ihnen eine gewisse natürliche Immunität oder Refraktärität gegenüber den Kälberruhrcolistämmen besitzen.

Ich prüfte nun, um die Virulenz der erhaltenen Mäusepassagestämme festzustellen, in mehreren Versuchsreihen dieselben durch subkutane Verimpfung an Mäuse. Zwar gelang es, mit St. B Ms.-P. 0,001 von vier Mäusen zwei in $1\frac{1}{2}$ bezw. $3\frac{1}{2}$ Tagen; mit St. C Ms.-P. 0,00001 vier graue Mäuse in $1\frac{1}{2}$ bis 2 Tagen und mit Stamm D Ms.-P. 0,0001 von vier grauen Mäusen zwei in $1\frac{1}{2}$ Tagen zu töten, doch waren die anderen erhaltenen Resultate so unregelmäßig, daß ich davon absehe, sie anzuführen. Die angeführten

Versuche beweisen eine Virulenzsteigerung von nur minimalem Grade und zeigen wieder die Inkonstanz der Maus für Kälberruhrcoliversuche.

Da das Meerschweinchen ein geeignetes Versuchstier ist, so war es interessant, zu erfahren, wie sich das Meerschweinchen gegenüber dem Ms.-Passagen verhalten würde. Es lag ja die Möglichkeit vor, daß durch die Ms.-Passage eine Virulenzverminderung der Kulturen für Meerschweinchen eingetreten sei. Ich gab darum den Versuchsmeerschweinchen zunächst (Tab. XVI) dieselben Dosen, die vor den Passagen für Meerschweinchen prompt tödlich waren. Ich bemerke noch, daß die Impfung mit einer eintägigen Bouillonkultur intraperitoneal vorgenommen wurde.

Tabelle XVI.

Datum	Gewicht des Mn.	Kultur	Dosis	Resultat
21. Aug. 07	300	A Ms.-P.	0,005	† $^3/_4$
21. „ 07	210	B „	0,1	† $^1/_2$
21. „ 07	221	C „	0,0001	† $^1/_2$
21. „ 07	250	D „	0,01	† $^1/_2$

Die benutzten Impftiere hatten ungefähr das gleiche Gewicht, wie die zum Vergleiche heranzuziehenden in dem entsprechenden Versuche vor der Passage (Tab. V). Das für St. A Ms.-P. benutzte war sogar erheblich (um 120 g) schwerer; trotzdem starben die Impftiere in der gleichen Zeit (St. A, C, D), bezw. relativ viel früher (St. B). Es ist hierdurch schon nachgewiesen, daß die Virulenz der benutzten Kälberruhrcolistämme dadurch, daß sie öfters den Mäusekörper passierten, auf keinen Fall für Meerschweinchen herabgesetzt wird.

Zwei Versuche, die ich zu anderen Zwecken unternahm, zeigten mir, daß die Virulenz für St. B und C auf jeden Fall zugenommen hatte. Ich konnte (22. Aug. 07) ein Meerschweinchen von 650 g mit St. B Ms.-P. 0,0001 intraperitoneal in $1^1/_2$ Tagen töten und ein Meerschweinchen von 700 g auch bei intraperitonealer Einverleibung mit St. C Ms.-P. 0,000001 in seiner Konstitution so schwächen, daß es sich von der Infektion nur sehr schwer erholte und erst in 25 Tagen sein Anfangsgewicht erreichte. Ich wählte jetzt für die 4 Mäusepassagestämme geringere Dosen, um sie an Meerschweinchen zu verimpfen.

Für St. A Ms.-P. 0,0005 (d. i. $^1/_{10}$ der vor der Passage in $^3/_4$ Tagen tötenden Minimaldosis);

Für St. B Ms.-P. 0,0001 (d. i. $^1/_{100}$ der früher in $2^1/_2$ Tagen tötenden Minimaldosis 0,01 tötete nicht mehr);

Für St. C Ms.-P. 0,0001 (d. i. die der früher in $^3/_4$ Tagen tötenden Minimaldosis entsprechende Menge);

Für St. D Ms.-P. 0,001 (entsprechend ungefähr $^1/_{10}$ der früher tötenden Minimaldosis).

Die Versuchstiere hatten annähernd dasselbe Gewicht wie in Versuch 5.

Tabelle XVII.

Datum	Gewicht des Mn.	Kultur	Dosis	Resultat
26. Aug. 07	200	A Ms.-P.	0,0005	† $^3/_4$
26. „ 07	220	B „	0,0001	† 4
26. „ 07	240	C „	0,0001	fiel aus äuß. Gründen aus
26. „ 07	225	D „	0,001	† $^3/_4$

Wie angeführt, starb das dreimal schwerere Meerschweinchen, mit derselben Dosis des St. B Ms.-P. geimpft, in $1^1/_2$ Tagen. Es geht aus den eben beschriebenen Versuchen hervor, daß die Virulenz der benutzten Kälberruhrstämme dadurch, daß sie öfter den Mäusekörper passierten, für Meerschweinchen gesteigert war und daß diese Zunahme der Virulenz zum Teil (St. B) sehr bedeutend war.

Ich habe jetzt also die Virulenz der durch die Mäusepassagen erhaltenen Kulturen für Mäuse und Meerschweinchen und der durch die Meerschweinchenpassagen erhaltenen Kulturen für Meerschweinchen betrachtet. Es bleibt noch übrig, auf die eventuelle Virulenzveränderung einzugehen, welche durch die Meerschweinchenpassagen für Mäuse eingetreten war. Ich stellte zu diesem Zwecke folgenden, in Tab. XVIII angeführten Versuch an.

Tabelle XVIII.

Datum	Impftiere	Kultur	Dosis	Resultat
21. Aug. 07	2 graue Mse.	A Mn.-P.	0,01	a † $2^3/_4$, b lebt
21. „ 07	2 „ „	B „	0,05	a † $2^3/_4$, b lebt
21. „ 07	2 „ „	C „	0,0001	leben
21. „ 07	3 „ „	D „	0,01	† 1

Für St. D Mn.-P. war jedenfalls keine Virulenzverminderung für Mäuse eingetreten; für C keine Virulenzsteigerung. Für A und B war eine Virulenzverminderung eingetreten, gelang es doch mit relativ hohen Dosen, nur je eine Maus, und diese auch erst in $2^3/_4$ Tagen zu töten. Man wird nicht fehlgehen, wenn man — soweit es bei der Unsicherheit, mit der die Mäuseversuche überhaupt zu beurteilen sind, möglich ist, einen Schluß zu ziehen — es als sehr wahrscheinlich annimmt, daß Kälberuhrcolistämme durch Meerschweinchenpassage an Virulenz für Mäuse auf keinen Fall zunehmen, jedoch abnehmen können.

3. Tournée-Passage.

Um nun noch das Kaninchen berücksichtigen zu können, mußte ich aus äußeren Gründen eine Modifikation der Passagen anwenden. Ich schickte die 4 Stämme nicht durch Kaninchen allein, sondern wandte

Tabelle XIX.

	Datum	Gewicht des Kn.	Dosis	Resultat
St. A	6. März 07	1000	0,1	lebt
	6. „ 07	900	0,25	„
	6. „ 07	1350	0,5	„
	9. April 07	1350	1,0	† $1^1/_2$
St. B	6. März 07	770	0,1	lebt
	6. „ 07	1300	0,25	„
	6. „ 97	930	0,5	„
	9. April 07	1290	1,0	„
St. C	31. Jan. 07	?	0,01	lebt
	18. Feb. 07	1900	0,01	„
	6. März 07	1180	0,05	† 2
	6. „ 07	910	0,1	† 5
	6. „ 07	1080	0,5	† $^1/_2$
	9. April 07	1400	0,01	lebt
St. D	1. März 07	?	0,01	lebt
	5. „ 07	1000	0,1	† 1
	19. „ 07	800	0,05	lebt

die Reihenfolge Maus-Meerschweinchen-Kaninchen an, welche ich im folgenden T.-P. (Tournée-Passage) nennen will. Die Kaninchen wurden stets intraperitoneal injiziert.

Die Virulenz der vier Stämme auf Kaninchen ist aus Tab. XIX ersichtlich.

Für Kaninchen ist also St. C (ebenso wie für Mäuse und Meerschweinchen) am virulentesten; dann folgt in der Virulenz St. D. Mit St. A ist es noch möglich, in einer Dosis von 1,0 ein mittelschweres Kaninchen zu töten, während dies mit St. B nicht mehr gelingt.

Es wurden die Versuchsstämme bei der T.-P. ebenso gehalten wie bei der Ms.- und Mn.-P. Als Impfkultur wurde auch hier die eintägige Bouillonkultur genutzt. Die Tabellen XX—XXIII geben über die Versuchsanordnung der Tournée-Passagen Auskunft.

Tabelle XX. (A. P.-P.)

Lfd. No.	Datum	Impftiere	Gewicht	Dosis	Art der Impfung	Resultat
1	19. März 07	2 graue Mse.	—	0,01	subk.	† 1/2
2	6. April 07	1 Mn.	200	0,01	ip.	† 1
3	15. „ 07	1 Kn.	800	1,0	„	† 1 1/2
4	26. „ 07	1 graue Ms.	—	0,01	subk.	† 1 1/2
5	8. Mai 07	1 Mn.	150	0,01	ip.	† 1 1/2
6	19. „ 07	1 Kn.	530	1,0	„	† 1/2
8	8. Juni 07	1 graue Ms.	—	0,01	subk.	† 1 1/2
7	20. „ 07	1 Mn.	165	0,005	ip.	lebt
	27. „ 07	1 „	485	0,02	„	lebt
	5. Juli 07	1 „	135	0,01	„	lebt
	10. „ 07	1 „	160	0,02	„	† 1 1/2
9	16. „ 07	1 Kn.	1090	1,0	„	† 1/2

Weil der St. B für Kaninchen nicht virulent genug war, versuchte ich ein drittes Tier, die weiße Ratte, einzuführen.

Tabelle XXI. (B. T.-P.).

Lfd. No.	Datum	Impftiere	Gewicht	Dosis	Art der Impfung	Resultat
1	19. März 07	2 graue Mse.	—	0,01	subk.	† 1 1/2
2	6. April 07	1 Mn.	200	0,1	ip.	† 1/2—3/4
3	15. „ 07	2 graue Mse.	—	0,01	subk.	† 1 1/2
4	26. „ 07	1 weiße Ratte	—	0,02	„	lebt
	1. Mai 07	dieselbe	—	1,0	ip.	† 1/2
5	4. „ 07	1 graue Ms.	—	0,01	subk.	lebt
	8. „ 07	1 „ „	—	0,01	„	† 2
6	11. „ 07	1 Mn.	425	0,1	ip.	† 1/2
7	14. „ 07	1 weiße Ratte	—	0,1	„	lebt

In diesem Stadium brach ich den Versuch für St. B ab, weil mir auch die weiße Ratte nicht genügend empfänglich erschien, und zu einer Tournée-Passage doch mindestens 3 empfängliche Tiere heranzuziehen sind.

Diese Tournée-Passagen stellte ich hauptsächlich an, um einige vergleichende Agglutinationen später ausführen zu können. Ausgedehntere Virulenzprüfungen habe ich mit den Schlußkulturen der T.-P.-Stämme nicht ausführen können; es läßt sich jedoch schon aus den Tabellen XX—XXIII einige Aufklärung über die Virulenzveränderung des Bact. coli vitulorum angeben.

Tabelle XXII. (C T.-P.)

Lfd. No.	Datum	Impftiere	Gewicht	Dosis	Art der Impfung	Resultat
1	19. März 07	2 graue Mse.	—	0,0001	subk.	† 1½
2	6. April 07	1 Mn.	200	0,0001	ip.	† ¾—1
3	22. „ 07	1 Kn.	770	0,5	„	† ½
4	26. „ 07	1 graue Ms.	—	0,001	subk.	† ½
5	8. Mai 07	1 Mn.	150	0,001	ip.	† ½—¾
6	14. „ 07	1 Kn.	700	0,05	„	† 1½
7	8. Juni 07	1 graue Ms.	—	0,001	subk.	† 1½
8	20. „ 07	1 Mn.	150	0,0005	ip.	† ¾
9	25. Juli 07	1 Kn.	1000	0,05	„	† ¾

Tabelle XXIII. (D T.-P.)

Lfd. No.	Datum	Impftiere	Gewicht	Dosis	Art der Impfung	Resultat
1	19. März 07	2 graue Mse.	—	0,01	subk.	† ½
2	6. April 07	1 Mn.	260	0,01	ip.	† ½—¾
3	15. „ 07	1 Kn.	870	0,1	„	† ¾
4	26. „ 07	1 graue Ms.	—	0,01	subk.	† ½
5	8. Mai 07	1 Mn.	170	0,01	ip.	† ¾
6	15. „ 07	1 Kn.	680	0,1	„	lebt
	20. „ 07	dasselbe	500	1,0	„	† 1¾ angelegte Kulturen steril
	23. „ 07	1 Kn.	1080	0,2	„	lebt
	29. „ 07	dasselbe	1200	1,0	„	† ¾
7	8. Juni 07	1 graue Ms.	—	0,01	subk.	† ½—¾
8	20. „ 07	1 Mn.	150	0,005	ip.	lebt
	27. „ 07	dasselbe	160	0,5	„	† ½
9	16. Juli 07	1 Kn.	970	0,2	„	lebt
	20. „ 07	dasselbe	790	2,0	„	lebt
	22. „ 07	1 anderes	1230	1,0	„	lebt
	24. „ 07	1 drittes	1250	2,0	„	† ½

Tab. XX (8. Passage) und Tab. XXIII (8. Passage) zeigen, daß für Meerschweinchen durch diese Passagebehandlung eine Virulenzsteigerung der Kälberruhrcolibacillen nicht eintritt. Ob der Körper der Maus oder der des Kaninchens oder ob beide Tiere hierfür verantwortlich sind, läßt sich nicht entscheiden. Auf dem angegebenen Wege der Tournée-Passage eine Viruleszierung der Kälberruhrcolibakterien für Kaninchen herbeizuführen, ist auch nicht gelungen (Tab. XXIII 6. und 9. Passage).

Der Vollständigkeit wegen weise ich hier noch darauf hin, daß es noch auf eine andere Weise gelungen ist, eine Viruleszierung für Bakterien herbeizuführen. Walker (36) erreichte eine Viruleszierung durch Züchtung von Bakterien im Immunserum. Er erklärt diesen Vorgang „als Folge einer Vermehrung der die Immunkörper bindenden Gruppen auf Grund der Ehrlichschen Theorie; die von den Immunstoffen des Serums infolge der vorhandenen Affinität besetzten Rezeptoren des Bakteriums würden zur Neubildung angeregt, genau wie die Zellrezeptoren des tierischen Organismus, wenn Bakterienprotoplasmamoleküle an sie herantreten. Hamburger (37) erklärt diese Viruleszierung eines Bakteriums durch Gewöhnung des Mikroorganismus an die Schutzstoffe der Tierspecies in vitro, weil das Bakterium im Immunserum seinerseits eine Immunität gegen die Schutzstoffe erwerbe. Die Viruleszierung in vivo erklärt Walker als Folge einer natürlichen Zuchtwahl (Uebrigbleiben der virulentesten Individuen).

B. Stammverschiedenheit.

Ich gehe jetzt zu den Versuchen über, die ich anstellte, um die Frage zu beantworten, ob die benutzten Kälberruhrstämme durch eine Reihe von Tierpassagen in ihrer Stammeseigentümlichkeit verändert würden.

Jensen hat den Begriff der Stammverschiedenheit derart definiert, daß er sagt, zwei Kälberruhrcolistämme sind stammverschieden, wenn ein mit dem einen hergestelltes Serum gegen einen anderen Stamm nicht schützt. Ich glaube, den Begriff der Stammverschiedenheit erweitern zu müssen, indem ich nicht nur die Spezifität des passiven Schutzes, sondern auch die des aktiven Schutzes und die „relative" Spezifität der Agglutination zur Eigentümlichkeit der Stammverschiedenheit rechne.

Eine Angabe von Rodet (38), welcher direkt die Ansicht äußert, ein Coli-Stamm könne, nachdem er eine gewisse Virulenzsteigerung erfahren hätte, in einen echten Typhuserreger übergehen, betonte die Möglichkeit der Aufhebung der Stammverschiedenheit zweier doch recht verschiedener Bakterien. Die Verschiedenheit der Eigentümlichkeiten des Typhuserregers und eines Coli-Bakteriums ist gewiß größer als die Verschiedenheit der Eigentümlichkeiten der Coli-Bakterien untereinander. Bei den Kälberruhrcolibakterien muß man das Bestehen einer noch näheren Verwandtschaft als bei den gewöhnlichen Coli-Bakterien annehmen, da den einzelnen Kälberruhrcolistämmen eine spezifische Eigentümlichkeit, die exquisite Pathogenität für neugeborene Kälber zukommt. Es lag daher nahe, mit der Möglichkeit zu rechnen, daß durch eine gleiche Behandlung sich die Stammverschiedenheit, die die Kälberruhrcolibakterien untereinander trennt, verwischen läßt.

Die 4 Versuchsstämme waren, wie ich nachweisen konnte, untereinander stammverschieden, weil kein mit einem Stamme hergestelltes Serum gegen einen heterologen Stamm schützte, weil ferner die relative Spezifität der Agglutinationskraft der mit den einzelnen Stämmen hergestellten Sera nachzuweisen war und weil schließlich ein mit einem Stamme aktiv hochimmunisiertes Versuchstier stets der Infektion mit einem anderen Stamme erlag.

I. Aktive Immunität.

1. Aktive Schutzprüfungen vor den Passagen.

Pfaundler (39) sagt, daß die Frage der Immunität gegen Coli-Infekte eine eingehende systematische Bearbeitung bisher nicht erfahren habe. Es sei hauptsächlich das Verhältnis des Bact. typhi zum Bact. coli commune bearbeitet, speziell die Frage, ob durch die überstandene Coli-Infektion eine erhöhte Resistenz oder Immunität für Typhus eintrete. Die Angaben der Forscher gehen in dieser Frage auseinander.

So viel ist seit langem bekannt, daß man durch Gaben allmählich steigender Dosen von lebenden Coli-Kulturen eine Immunität erzeugen könne. Cesaris Demel und Orlandi (40) erreichten eine Immunität mit gekochten Bouillonkulturen und mit Glycerinextrakt von Kulturmassen.

Für die Verhältnisse der aktiven Immunität bei den Kälberruhrcolibacillen ist wenig in der Literatur bekannt. Es ist verzeichnet, daß ein Kalb nach überstandener Kälberruhrcoliinfektion nicht mehr an Kälberruhr erkranke. Ueber den Eintritt der Immunität bei Versuchs-

tieren ist in der Literatur nichts angegeben. Um feststellen zu können, ob die durch einen Kälberruhrcolistamm bei Versuchstieren erzeugte Immunität, welche gegen die Infektion mit einem anderen Stamm nicht schützt, durch gleiche Passagebehandlung dieser Stämme nach der Passage der Stämme „stammspezifisch" bleibt, mußte zuerst das diesbezügliche Verhalten der 4 Stämme vor der Passage und dann das Verhalten der Passagestämme geprüft werden.

Ich immunisierte mit den Anfangsstämmen eine Anzahl Meerschweinchen, indem ich ihnen ungefähr alle 8 Tage eine steigende Dosis Bouillonkultur intraperitoneal injizierte, so daß sie gegen die 100-fache oder noch höhere Dosis des benutzten Stammes immun waren. Diese hochimmunen Tiere infizierte ich mit einem heterologen Anfangsstamme, und dabei stellte sich heraus, daß kein mit den Anfangsstämmen in der beschriebenen Weise behandeltes Meerschweinchen gegen einen anderen Stamm immun war (Stammverschiedenheit). Die Immunisierungsversuche wurden wiederholt und lieferten in allen Fällen ein gleiches Resultat.

Ich führe eine Anzahl der angestellten Versuche hier an.

Tabelle XXIV (Vorversuch).

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
6. April 07	ca. 220	C	0,00001	ip.	lebt
22. „ 07	190	„	0,1	„	„
4. Juni 07	340	„	0,001	„	„
11. „ 07	360	„	0,01	„	„
19. „ 07	220	A	0,01	„	† 1

Eine Kontrolle war nicht mitgeimpft worden. Aus diesem Versuche ist eine ganze Reihe zu entnehmen. Es war zur Immunisierung des Meerschweinchens der virulenteste der 4 Stämme benutzt. Nachdem das Meerschweinchen ca. $^{1}/_{10}$ der tödlichen Dosis (siehe Virulenzprüfung für St. C) erhalten hatte, blieb es auf eine Infektion der ca. 1000-fachen Dosis letalis am Leben. Die Immunität ist also nach einer Infektion mit einer relativ kleinen Dosis sehr hoch gewesen. 5 Wochen nach der zweiten Injektion erhielt das Meerschweinchen die 10-fach tödliche Dosis und blieb am Leben, ein Beweis dafür, daß die Immunität nicht in kurzer Zeit verschwindet. Die mehrfach tödliche Dosis von St. A tötet dieses gegen St. C immune Meerschweinchen innerhalb eines Tages. Es ist durch diesen Vorversuch schon ein Anhalt gegeben für die weiterhin zu benutzende Immunisierungstechnik. Da die mit einer kleinen Dosis erreichte Immunität relativ hoch war, so konnte man bei der Immunisierung mit Kälberruhrcolibakterien schnell zu höheren Dosen übergehen. Um jedoch eine gewisse Gleichmäßigkeit in den Immunisierungsversuchen zu erzielen, gab ich gewöhnlich den Impftieren zuerst ein Zehntel der Dosis letalis minima und dann alle 6 bis 8 Tage die 10-fache Dosis der vorigen. Einige Male vermehrte ich die nachfolgende Immunisierungsdosis nicht um das 10-fache der vorhergehenden, sondern nur um das Doppelte oder Dreifache, weil die Impftiere erhebliche Krankheitserscheinungen gezeigt oder an Gewicht abgenommen hatten.

Weil das Kontrollmeerschweinchen erheblich leichter war, wurde bei ihm nur die Hälfte der Dosis angewandt, die das immunisierte Meerschweinchen bekam. Der Versuch ergibt, daß ein mit St. A hoch-

Tabelle XXV.
(Prüfung eines mit St. A immunisierten Mn.s gegen St. C.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
4. Juni 07	433	A	0,0001	ip.	lebt
11. „ 07	452	„	0,001	„	„
18. „ 07	490	„	0,01	„	„
25. „ 07	475	„	0,02	„	„
5. Juli 07	495	„	0,2	„	„
13. „ 07	480	„	0,2	„	„
20. Juli 07	495	C	0,01	ip.	† 1/2
20. „ 07	245	„	0,005	„	† 1/2 Kontrolle

immunisiertes Meerschweinchen gegen eine mehrfache tödliche Dosis von St. C nicht geschützt war.

Der umgekehrte Versuch führte zu dem gleichen Resultat (Tab. XXVI).

Tabelle XXVI.
(Prüfung eines mit St. C immunisierte Mn.s gegen St. A.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Ipmfung	Bemerkungen
13. Juni 07	140	C	0,000001	ip.	lebt
18. „ 07	180	„	0,0001	„	„
25. „ 07	165	„	0,0005	„	„
5. Juli 07	200	„	0,005	„	„
13 „ 07	210	„	0,05	„	„
22. Juli 07	210	A	0,05	ip.	† 1/2
22. „ 07	230	„	0,05	„	† 1/2 Kontrolle

Das immunisierte Meerschweinchen hatte die ca. 500-fach tödliche Dosis des St. C bekommen, ohne hierdurch gegen die ca. 50-fach tödliche Dosis des St. A immun zu werden.

Tabelle XXVII. (Prüfung eines mit St. A immunisierten Mn.s gegen St. D.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
20. Juni 07	160	A	0,001	ip.	lebt
26. „ 07	155	„	0,01	„	„
5. Juli 07	200	„	0,05	„	„
13. „ 07	230	„	0,2	„	„
20. Juli 07	270	D	0,1	ip.	† 1/2
20. „ 07	230	„	0,05	„	† 1/2 Kontrolle

Tabelle XXVIII. (Prüfung eines mit St. D immunisierten Mn.s gegen St. A.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
4. Juni 07	335	D	0,0001	ip.	lebt
11. „ 07	355	„	0,001	„	„
18. „ 07	380	„	0,01	„	„
25. „ 07	385	„	0,02	„	„
5. Juli 07	420	„	0,1	„	„
13. „ 07	415	„	0,2	„	„
20. Juli 07	420	A	0,1	ip.	† 1/2
20. „ 07	230	„	0,05	„	† 1/2 Kontrolle

Ein mit St. A immunisiertes Meerschweinchen war also (Tab. XXVII) nicht gegen die Infektion mit St. D immun und umgekehrt konnte die aktive Immunisierung mit St. D (Tab. XXVIII) ein Meerschweinchen nicht gegen die Infektion mit St. A schützen. Das gleiche gilt für die Stämme C und D (Tab. XXIX und XXX).

Tabelle XXIX. (Prüfung eines mit St. C immunisierten Mn.s gegen St. D.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
4. Juni 07	390	C	0,000001	ip.	
11. „ 07	400	„	0,00001	„	
18. „ 07	460	„	0,0001	„	
25. „ 07	475	„	0,001	„	
5. Juli 07	510	„	0,01	„	
13. „ 07	485	„	0,1	„	
20. Juli 07	435	D	0,1	ip.	† $^3/_4$
20. „ 07	225	„	0,05	„	† $^1/_2$ Kontrolle

Tabelle XXX. (Prüfung eines mit St. D immunisierten Mn.s gegen St. C.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
21. Juni 07	230	D	0,0005	i.p	lebt
25. „ 07	255	„	0,002	„	„
5. Juli 07	300	„	0,1	„	„
13. „ 07	310	„	0,2	„	„
20. Juli 07	340	C	0,005	ip.	† $^1/_2$
20. „ 07	245	„	0,005	„	† $^1/_2$ Kontrolle

Die aktiven Immunisierungs- und Schutzversuche wurden mit demselben Resultate wiederholt. Es wurde auch nachgewiesen, daß ein mit St. B immunisiertes Meerschweinchen nicht gegen eine Infektion des St. A und D geschützt war und daß ferner Meerschweinchen, die mit den Stämmen A, C und D immunisiert waren, nicht gegen eine Infektion des St. B geschützt blieben. Damit ist dargetan, daß die benutzten Stämme, soweit die aktive Immunität in Frage kam, wirklich „stammverschieden“ waren.

Es kam nun darauf an, zu untersuchen, ob sie diese Stammverschiedenheit nach den Tierpassagen beibehalten hatten. Die Art, wie die Passage angestellt worden ist, ist oben beschrieben.

Ich stellte mit den Passagenkulturen ähnliche Versuche an, wie die in den letzten Tabellen beschriebenen. Diese Versuche hatten, wie ich vorwegnehmen will, dasselbe Resultat, wie die Versuche XXV—XXX. Es konnte kein Meerschweinchen durch einen Passagestamm derart aktiv immunisiert werden, daß es gegen die Infektion mit einem anderen (heterologen) Stamm geschützt blieb.

Ich wählte für die Mäusepassagenstämme zuerst Mäuse, später Meerschweinchen als Versuchstiere, für die Meerschweinchenpassagenstämme Meerschweinchen.

2. Aktive Schutzprüfungen der Mauspassagenstämme.

Bei der Immunisierung der Mäuse zeigte es sich, daß diese nur sehr schwer oder gar nicht eine starke Immunität erlangten. Es fielen trotz vorsichtigster Dosierung ganze Versuchsreihen aus, auch wenn ich mit

einem Hundertstel der Dosis letalis minima die Immunisierung begann und die subkutane Methode benutzte. Ich führe die wenigen Versuche, in denen Mäuse bei der Immunisierung am Leben blieben, hier an:

Tabelle XXXI. (Prüfung von mit St. A immunisierten Mäusen gegen St. D.)

Datum	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Mse.				Kontrollmaus	
				1	2	3	4	1	2
22. Aug. 07	A Ms.-P.	0,0001	subk.	lebt	lebt	lebt	lebt	—	—
31. „ 07	„ „	0,001	„	† $3\frac{1}{2}$	† 9	„	„	† 2	lebt
9. Sept. 07	„ „	0,005	„	—	—	† 2	„	† $\frac{1}{2}$	† $\frac{1}{2}$
17. „ 07	„ „	0,01	„	—	—	—	„	† $1\frac{1}{2}$	† $1\frac{1}{2}$
24. „ 07	D „	0,01	„	—	—	—	† 1	† $\frac{3}{4}$	† $\frac{3}{4}$

Tabelle XXXII. (Prüfung von mit St. B immunisierten Mäusen gegen St. D.)

Datum	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Mse.				Kontrollmaus	
				1	2	3	4	1	2
22. Aug. 07	B Ms.-P.	0,001	subk.	lebt	lebt	lebt	lebt	—	—
31. „ 07	„ „	0,01	„	† 2	† 2	† $2\frac{1}{2}$	„	† $1\frac{1}{2}$	† 2
9. Sept. 07	„ „	0,05	„	—	—	—	„	† $1\frac{1}{2}$	† $1\frac{1}{4}$
17. „ 07	„ „	0,1	„	—	—	—	„	† $1\frac{1}{2}$	† $1\frac{1}{2}$
24. „ 07	D „	0,01	„	—	—	—	† 1	† $\frac{3}{4}$	† $\frac{3}{4}$

Die beiden bei der Immunisierung mit St. A Ms.-P. und St. B Ms.-P. übrig gebliebenen Mäuse (4) zeigten sich gegen einen heterologen Stamm (St. D Ms.-P.) nicht immun. Mehrere andere Immunisierungsversuche gaben ein anderes Resultat (Tab. XXXIII—XXXV). Hier zeigte sich, daß die tödliche Infektion einer mit einem Stamme immunisierten Maus mit einem nicht zur Immunisierung benutzten Stamme nicht gelang.

Es war, wie ersichtlich, möglich, graue Mäuse durch Immunisierung gegen die sicher tödliche Dosis eines anderen Stammes zu schützen. Aus diesen wenigen Versuchen, bei denen überhaupt Mäuse zur Prüfung gegen einen anderen Stamm übrig blieben, schließen zu wollen, daß Kälberruhrstämme dadurch, daß sie gleichmäßig den Mauskörper pas-

Tabelle XXXIII. (Prüfung von mit St. C immunisierten Mäusen gegen St. B.)

Datum	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Mse.				Kontrollmaus	
				1	2	3	4	1	2
22. Aug. 07	C Ms.-P.	0,00001	subk.	† 8	lebt	lebt	lebt	—	—
30. „ 07	„ „	0,0001	„	—	† $\frac{1}{2}$	„	„	† $3\frac{1}{2}$	lebt
9. Sept. 07	„ „	0,001	„	—	—	„	„	† $3\frac{3}{4}$	† $1\frac{1}{4}$
17. „ 07	„ „	0,005	„	—	—	† $1\frac{1}{4}$	„	† $1\frac{1}{2}$	† $1\frac{1}{2}$
24. „ 07	B „	0,01	„	—	—	—	„	† 1	† 1

Tabelle XXXIV (Prüfung von mit St. C immunisierten Mäusen gegen St. D).

Datnm	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Mse.				Kontrollmaus	
				1	2	3	4	1	2
22. Aug. 07	C Ms.-P.	0,00001	subk.	† 8	lebt	lebt	lebt	—	—
31. „ 07	„ „	0,0001	„	—	† $1\frac{1}{2}$	„	„	† $3\frac{1}{2}$	lebt
9. Sept. 07	„ „	0,001	„	—	—	† $2\frac{3}{4}$	„	† $3\frac{3}{4}$	† $1\frac{1}{4}$
17. „ 07	„ „	0,005	„	—	—	—	„	† $1\frac{1}{2}$	† $1\frac{1}{2}$
24. „ 07	D „	0,01	„	—	—	—	„	† 1	† 1

Tabelle XXXV.
(Prüfung von mit St. D. immunisierten Mäusen gegen St. A. und C.)

Datum	Stamm	Dosis	Art der Impfungen	Mse.				Kontrollmaus	
				1	2	3	4	1	2
22. Aug. 07	D Ms.-P.	0,0001	subk.	† $1\frac{1}{2}$	† $1\frac{1}{2}$	lebt	lebt	—	—
30. „ 07	„ „	0,001	„	—	—	„	„	† $\frac{1}{2}$	† $\frac{1}{2}$
9. Sept. 07	„ „	0,005	„	—	—	„	„	† $1\frac{3}{4}$	† $\frac{3}{4}$
17. „ 07	„ „	0,01	„	—	—	„	„	† $\frac{3}{4}$	† $\frac{3}{4}$
Ms. 3 24. „ 07	A „	0,01	„	—	—	„		† $\frac{3}{4}$	† $\frac{3}{4}$
„ 4 24. „ 07	C „	0,005	„	—	—		„	† $\frac{3}{4}$	† $\frac{3}{4}$

sierten, ihre Stammverschiedenheit einbüßten, wäre verfrüht, zumal wir schon gesehen haben, daß andere Versuche das entgegengesetzte Resultat ergaben. Trotzdem muß zugegeben werden, daß durch die Immunisierung mit einem Kälberruhrstamme eine Resistenzerhöhung gegen einen anderen Stamm eintreten kann. Ein analoges Verhältnis haben Löffler und Abel (41) für die spezifischen Eigenschaften der Schutzkörper im Blute typhus- und coliimmuner Tiere gefunden: Typhusserum schütze gegen eine etwas höhere Dosis von Coli-Bakterien wie normales Serum und vice versa. In diesem erhöhten Schutze kommt gewissermaßen die Familienverwandtschaft beider Bakterienarten zum Ausdruck. Es ist darum nicht so sehr wunderbar, wenn ich für Bakterien, die zueinander in einer noch näheren Familienverwandtschaft stehen als das Bact. typhi und Bact. coli, gefunden habe, daß etwas Aehnliches allerdings bei aktiver Immunisierung eintreten könne. Ob hierfür der Name „erhöhte Resistenz“ oder „Immunität“ zutreffend ist, kann ich aus den angestellten Versuchen nicht entscheiden.

3. Aktive Schutzprüfungen der Meerschweinchenpassagenstämme.

Ich erinnere, daß die 4 Stämme vor der Passage gegeneinander bei aktiv immunisierten Tieren einen Schutz nicht boten. Um ihr gegenseitiges Verhalten nach den Meerschweinchenpassagen beurteilen zu können, stellte ich eine Anzahl von Immunisierungsschutzversuchen an.

Ein Teil der bei den Immunisierungsversuchen benutzten Meerschweinchen ging ein. Die hier angeführten Versuche, die als Vergleichsversuche zu den Versuchen XXV—XXX angestellt sind, haben eine ähnliche Anordnung wie diese erfahren. Die hier angeführten Versuche sind wiederholt worden und haben ein gleiches Resultat ergeben.

Tabelle XXXVI.
(Prüfung eines mit St. A. Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. C. Mn.-P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfungen	Bemerkungen
31. Aug. 07	270	A Mn.-P.	0,000005	ip.	lebt
9. Sept. 07	300	„ „	0,00001	„	„
17. „ 07	300	„ „	0,0001	„	„
24. „ 07	350	„ „	0,001	„	„
30. „ 07	400	„ „	0,01	„	„
10. Okt. 07	450	C Mn.-P.	0,001	ip.	† 1
10. „ 07	320	„ „	0,001	„	† $\frac{3}{4}$ Kontrolle

Tabelle XXXVII.
(Prüfung eines mit St. A. Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. D. Mn.-P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfungen	Bemerkungen
30. Aug. 07	230	A Mn.-P.	0,00001	ip.	lebt
9. Sept. 07	260	„ „	0,0001	„	„
17. „ 07	290	„ „	0,001	„	„
24. „ 05	340	„ „	0,01	„	„
30. „ 07	385	„ „	0,1	„	„
10. Okt. 07	420	D Mn.-P.	0,01	ip.	† $1\frac{1}{4}$
10. „ 07	320	„ „	0,01	„	† $\frac{3}{4}$ Kontrolle

Tabelle XXXVIII.
(Prüfung eines mit St. B Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. D Mn.-P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
3. Sept. 07	235	B Mn.-P.	0,000001	ip.	lebt
9. „ 07	260	„ „	0,00001	„	„
17. „ 07	300	„ „	0,0001	„	„
24. „ 07	340	„ „	0,001	„	„
30. „ 07	390	„ „	0,01	„	„
10. Okt. 07	420	D Mn.-P.	0,01	ip.	† $\frac{3}{4}$
10. „ 07	320	„ „	0,01	„	† $\frac{3}{4}$ Kontrolle

Tabelle XXXIX.
(Prüfung eines mit St. B Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. C Mn.-P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
3. Sept. 07	240	B Mn.-P.	0,000001	ip.	lebt
9. „ 07	270	„ „	0,00001	„	„
17. „ 07	300	„ „	0,0001	„	„
24. „ 07	340	„ „	0,001	„	„
30. „ 07	370	„ „	0,01	„	„
10. Okt. 07	420	C Mn.-P.	0,001	ip.	† $1\frac{1}{2}$
10. „ 07	320	„ „	0,001	„	† $\frac{3}{4}$ Kontrolle

Tabelle XL.
(Prüfung eines mit St. C Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. B Mn.P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
3. Sept. 07	230	C Mn.-P.	0,000001	ip.	lebt
9. „ 07	260	„ „	0,00001	„	„
17. „ 07	300	„ „	0,0001	„	„
24. „ 07	330	„ „	0,001	„	„
30. „ 07	370	„ „	0,01	„	„
10. Okt. 07	400	B Mn.-P.	0,01	ip.	† $1\frac{1}{4}$
10. „ 07	370	„ „	0,01	„	† $\frac{3}{4}$ Kontrolle

Tabelle XLI.
(Prüfung eines mit St. C Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. D Mn.-P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
31. Aug. 07	220	C Mn.-P.	0,000001	ip.	lebt
9. Sept. 07	260	" "	0,00001	"	"
17. " 07	300	" "	0,0001	"	"
23. " 07	340	" "	0,001	"	"
30. " 07	400	" "	0,01	"	"
10. Okt. 07	410	D Mn.-P.	0,01	ip.	† 1¼
10. " 07	320	" "	0,01	"	† ¾ Kontrolle

Tabelle XLII.
(Prüfung eines mit St. D Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. A Mn.-P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
9. Sept. 07	235	D Mn.-P.	0,00001	ip.	lebt
17. " 07	290	" "	0,0001	"	"
24. " 07	340	" "	0,001	"	"
30. " 07	400	" "	0,01	"	"
10. Okt. 07	400	A Mn.-P.	0,01	ip.	† 1¼
10. " 07	300	" "	0,01	"	† ¾ Kontrolle

Tabelle XLIII.
(Prüfung eines mit St. D Mn.-P. immunisierten Mn.s gegen St. C Mn.-P.)

Datum	Gewicht des Mn.	Stamm	Dosis	Art der Impfung	Bemerkungen
9. Sept. 07	280	D Mn.-P.	0,00001	ip.	lebt
17. " 07	300	" "	0,0001	"	"
24. " 07	320	" "	0,001	"	"
30. " 07	370	" "	0,01	"	"
10. Okt. 07	390	C Mn.-P.	0,001	ip.	† ¾
10. " 07	390	" "	0,001	"	† ¾ Kontrolle

Die Versuche XXXVI—XLIII zeigen, daß die aktiv immunisierten Meerschweinchen gegen einen anderen Stamm, als den zur Immunisierung benutzten nicht immun waren. Es ist also eine Veränderung der Kälberruhrstämme in dem Sinne, daß durch gleiche Meerschweinchenpassagenbehandlung die Stammverschiedenheit verwischt oder aufgehoben werde, nicht eingetreten. Es hatte ebenso wie vor den Meerschweinchenpassagen die aktive Immunität keine Einwirkung auf die Infektion mit einem heterologen Stamm. Wo in den Versuchen das immunisierte Tier später (bis ½ Tag) gestorben ist, als das Kontrolltier, hat das erstere ein höheres Gewicht gehabt. Aber auch das höhere Gewicht konnte in einigen Fällen nicht verhindern (Tab. XXXVIII und XLIII), daß das Kontroll- und das Immunmeerschweinchen zu derselben Zeit starben. Die Immunität hatte also noch nicht einmal eine aufschiebende Wirkung für die Infektion mit einem heterologen Stamm.

II. Passive Immunität.

Die Resultate der aktiven Immunisierungsversuche wurden durch die der passiven bestätigt. Durch die Arbeiten von Jensen (l. c.) und

Joest (l. c.) war bekannt, daß Kaninchen ein wirksames Kälberruhrserum geben, und ich immunisierte darum eine Anzahl Kaninchen mit den einzelnen Anfangs- und später mit den Passagestämmen und stellte dann mit einer bestimmten Serumdosis (0,1 ccm) und der ca. 10-fachen Dosis letalis minima von jedem Kälberruhrstamm passive Schutzprüfungen an, derart, daß das Serum eines jeden Stammes auf jeden (sowohl homologen als heterologen) Stamm geprüft wurde. Zu den Immunisierungen mit den Passagenstämmen benutzte ich als Serumlieferanten Meerschweinchen und Kaninchen.

1. Passive Schutzprüfungen mit den Anfangsstämmen.

Ich kann die Beobachtung von Joest bestätigen, daß Kaninchen bei der Immunisierung leicht unter den Erscheinungen der Kachexie eingehen. Von einer größeren Anzahl von Immunisierungsversuchen nehme ich vier (für jeden Stamm einen) heraus, und zwar ist die Immunisierungstabelle für dasjenige Serum im folgenden angegeben, das bei den weiteren Schutz- und Agglutinationsversuchen angewendet wurde.

Die Kulturen wurden intraperitoneal einverleibt.

Tabelle XLIV. (St. A) (Kn. 1.)

Datum	Gewicht des Kn.	Dosis
19. März 07	1890	0,01
26. „ 07	1820	0,1
4. April 07	1800	0,7
11. „ 07	1770	0,7
18. „ 07	1760	0,7
26. „ 07	1800	1,0
2. Mai 07	1780	1,0
10. „ 07	1820	1,0
16. „ 07	1820	1,0

Tabelle XLV (St. B) (Kn. 2).

Datum	Gewicht des Kn.	Dosis
6. März 07	1300	0,25
13. „ 07	1100	0,75
19. „ 07	1300	1,0
26. „ 07	1480	1,0
4. April 07	1500	1,0
11. „ 07	1680	0,5
18. „ 07	1780	1,0
26. „ 07	1780	1,0
2. Mai 07	1970	1,5
10. „ 07	1620	1,0

Tabelle XLVI (St. C) (Kn. 3).

Datum	Gewicht des Kn.	Dosis
18. Febr. 07	1900	0,01
1. März 07	1890	0,01
13. „ 07	2170	0,1
19. „ 07	2250	0,3
26. „ 07	2270	0,6
4. April 07	2300	0,6
11. „ 07	2240	1,0
18. „ 07	2400	1,0
26. „ 07	2370	1,0
2. Mai 07	2500	2,0
10. „ 07	2560	1,5
16. „ 07	2450	1,0

Tabelle XLVII (St. D) (Kn. 4).

Datum	Gewicht des Kn.	Dosis
7. März 07	?	0,05
19. „ 07	1850	0,1
26. „ 07	1930	0,4
4. April 07	2050	0,4
11. „ 07	2080	0,7
18. „ 07	2210	0,7
26. „ 07	2200	1,0
2. Mai 07	2060	1,0
16. „ 07	2350	1,0

Die Kaninchen 1, 3 und 4 wurden am 24. Mai 07, Kaninchen 2 wurde am 18. Mai 07 entblutet. Das Gewicht der 4 Kaninchen war vor dem Entbluten folgendes:

Kn. 1 = 1839, Kn. 2 = 1680, Kn. 3 = 2440, Kn. 4 = 2250.

Das beim Entbluten erhaltene Blut ließ ich absetzen und pipettierte das Serum ab. Dieses versetzte ich zur Konservierung mit 5 Proz. einer 10-proz. Karbolglycerinlösung.

Mit den vier erhaltenen Seris stellte ich die folgenden Schutzversuche an: Das Serum wurde am 7. Nov. 07 subkutan und die Kultur 24 Stunden später intraperitoneal einverleibt. Ich benutzte zwischen der Applikation des Serums und der der Kultur die angegebene Zeitdifferenz deshalb, um den Ambozeptoren Zeit zu lassen, sich mit dem Komplement zu verankern, oder, falls kein passendes Komplement in genügender Menge zur Verfügung war, für die Zubildung dieses passenden Komplementes eine günstige Voraussetzung zu schaffen. Von einer genauen Titrierung des Serums wurde abgesehen. Das Serum wurde stets, wie gesagt, in einer Dosis von 0,1 ccm gegeben. Um die Zahl für die 10-fache Dosis letalis minima zu finden, wurden für alle 4 Stämme durch Virulenzprüfungen die einfachtödlichen Dosen mit ziemlicher Genauigkeit vorher festgestellt. Eine kleinere Infektionsdosis als die 10-fache konnte ich nicht wählen, da schon Pfaundler und Gratz (42) nachgewiesen haben, daß auch normales Serum gegen die einfach tödliche Dosis von Coli-Kulturen, sowie gegen niedere Multipla eine schützende Wirkung besitze. Die spezifische Wirksamkeit der Schutzstoffe trete in dem Blute vorbehandelter Tiere erst dann zutage, wenn man den zu schützenden Tieren Multipla jener Bakteriendosen beibringe, gegen welche das normale Serum Schutz verleiht. Als Versuchstiere wurden Meerschweinchen benutzt.

Tabelle XLVIII.
(Passive Schutzprüfung mit den Anfangskulturen und deren Seris.)

Gewicht der Mn.	Serum	Stamm	Bemerkungen
270	A	A 0,05	lebt
230	B	„ 0,05	† 1
240	C	„ 0,05	† 1
250	D	„ 0,05	† 1½
230	—	„ 0,05	† 1 Kontrolle
260	A	B 0,2	† 1
235	B	„ 0,2	lebt
190	C	„ 0,2	† ¾
220	D	„ 0,2	† 1½
220	—	„ 0,2	† ¾ Kontrolle
230	A	C 0,001	† ¾
230	B	„ 0,001	† ¾
240	C	„ 0,001	lebt
240	D	„ 0,001	† 1
200	—	„ 0,001	† ¾ Kontrolle
200	A	D 0,005	† 1
210	B	„ 0,005	† 2
210	C	„ 0,005	† 1
200	D	„ 0,005	lebt
210	—	„ 0,005	† 1 Kontrolle

Es ist durch den Versuch XLVIII nachgewiesen, daß das Serum eines Anfangsstammes gegen einen anderen im Tierversuch nicht schützt, während es in derselben Dosis gegen den homologen Stamm schützt (Stammverschiedenheit). Es fragt sich nun, ob sich diese Stammeseigentümlichkeit auch nach den Passagen erhalten habe.

2. Passive Schutzprüfungen mit den Passagenstämmen.

Ich immunisierte zum Zwecke der Serumgewinnung mit den Ms.-, Mn.- und T.-Passagestämmen zunächst Meerschweinchen.

Tabelle XLIX (St. A).

St. A Ms.-P.			St. A Mn.-P.			St. A T.-P.		
Datum	Gew. des Mn.	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Mn.	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Kn.[1])	Dosis der Kulturen
22. Aug. 07	750	0,0001	22. Aug. 07	700	0,0001	24. Sept. 07	1250	0,01
31. „ 07	770	0,001	30. „ 07	720	0,001	30. „ 07	1300	0,1
9. Sept. 07	750	0,01	9. Sept. 07	680	0,01	8. Okt. 07	1450	1,0
17. „ 07	700	0,1	17. „ 07	700	0,1	18. „ 07	1700	entblutet
24. „ 07	745	0,2	24. „ 07	700	0,2			
30. „ 07	770	0,3	30. „ 07	690	0,3			
10. Okt. 07	800	entblutet	10. Okt. 07	700	entblutet			

Tabelle L (St. B.)

St. B Ms.-P.			St. B Mn.-P.			St. B T.-P.		
Datum	Gew. des Kn.[1])	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Mn.	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Kn.[1])	Dosis der Kulturen
3. Sept. 07	2750	0,001	22. Aug. 07	700	0,001	12. Sept. 07	1440	0,01
9. „ 07	2850	0,01	30. „ 07	1490	0,01	17. „ 07	1350	0,1
17. „ 07	2970	0,1	9. Sept. 07	660	0,05	24. „ 07	1500	0,2
24. „ 07	3090	0,5	17. „ 07	670	0,1	30. „ 07	1620	0,5
30. „ 07	3150	1,0	24. „ 07	690	0,2	7. Okt. 07	1890	0,0
8. Okt. 07	3340	1,0	30. „ 07	650	0,3	18. „ 07	2100	entblutet
18. „ 07	3320	entblutet	10. Okt. 07	690	entblutet			

Tabelle LI (St. C).

St. C Ms.-P.			St. C Mn.-P.			St. C T.-P.		
Datum	Gew. des Kn.[1])	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Kn.[1])	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Kn.[1])	Dosis der Kulturen
3. Okt. 07	1770	0,001	3. Okt. 07	1150	0,001	starb an Kachexie		
8. „ 07	1920	0,01	8. „ 07	1270	0,01			
20. „ 07	2220	0,05	20. „ 07	1320	0,05			
26. „ 07	2370	0,5	26. „ 07	1490	0,5			
5. Nov. 07	2470	entblutet	5. Nov. 07	1470	entblutet			

Tabelle LII (St. D).

St. D Ms.-P.			St. D Mn.-P.			St. D T.-P.		
Datum	Gew. des Mn.	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Mn.	Dosis der Kulturen	Datum	Gew. des Mn.	Dosis der Kulturen
22. Aug. 07	670	0,0001	22. Aug. 07	650	0,0001	22. Aug. 07	750	0,0001
30. „ 07	730	0,001	30. „ 07	680	0,001	31. „ 07	730	0,001
9. Sept. 07	820[2])	0,01	9. Sept. 07	670	0,01	9. Sept. 07	830	0,01
12. „ 07	590	0,1	12. „ 07	670	0,1	12. „ 07	900	0,1
24. „ 07	615	0,1	24. „ 07	690	0,1	24. „ 07	770	0,1
30. „ 07	600	0,2	30. „ 07	670	0,2	30. „ 07	690	0,2
10. Okt. 07	650	entblutet	10. Okt. 07	690	entblutet	10. Okt. 07	800	entblutet

1) Das benutzte Meerschweinchen war gestorben.

2) Das Meerschweinchen war trächtig, warf am 10. Sept. 07 zwei Junge, die in 12 Stunden eingingen. Aus dem Herzen dieser Tiere ließen sich Coli-Kulturen gewinnen, die auf Bouillonkultur das typische Wachstum von St. D hatten (häutchenbildend).

Als sich diese gegen bestimmte Stämme als zu empfindlich erwiesen, nahm ich für diese Stämme Kaninchen. Die Tourneepassagesera stellte ich nur zu dem Zwecke her, um später vergleichende Agglutinationsprüfungen machen zu können.

Die Injektion der Immunisierungskulturen wurde intraperitoneal vorgenommen.

Durch die Immunisierungsversuche XLIX—LII erhielt ich 4 Ms.-P.-, 4 Mn.-P.- und 3 T.-P.-Sera. Die Sera wurden zur Konservierung mit 5 Proz. einer 10-proz. Karbolglycerinlösung versetzt. Mit ihnen stellte ich die folgenden passiven Schutzprüfungen an, in analoger Weise, wie ich vorhin die passive Schutzprüfung mit den Seren der Anfangsstämme angestellt hatte (Tab. XLVIII).

a) Passive Schutzprüfung mit den Mauspassagestämmen und den mit ihnen hergestellten Seris.

Aus einigen an Mäusen zunächst angestellten Virulenzprüfungen ging hervor, daß für St. A Ms.-P., an Mäusen intraperitoneal geprüft, 0,005 der 10-fach tödlichen Dosis entsprach — die Unsicherheit, mit der die Mäuse auch bei der intraperitonealen Applikation starben, unberücksichtigt gelassen —; für St. B Ms.-P. entsprach 0,005, für St. C Ms.P. 0,0005 und für St. D Ms.-P. 0,005 der 10-fach tödlichen Dosis.

Die angestellten Schutzprüfungen aber lieferten, als ich Mäuse zu diesen Prüfungen benutzte, absolut kein Resultat, da die Prüfungen sämtlich nicht eindeutig ausfielen.

Ich entschloß mich daher, die Prüfungen an Meerschweinchen zu wiederholen. Auch hier stellte ich zunächst Virulenzprüfungen an. Die in der Tab. LIII angewendeten Dosen entsprechen etwa der zehnfach tödlichen Dosis. Da der erste angestellte Versuch wegen einer Ungleichheit im Gewicht der Versuchstiere nicht ganz gleichmäßig ausfiel — es blieben 3 Meerschweinchen am Leben, welche mit dem Serum eines heterologen Stammes behandelt waren, während 6 gleichbehandelte Meer-

Tab. LIII. (Passive Schutzimpfung mit den Ms.-P. Kulturen und deren Seris.)

Gew. der Mn.	Serum	Kultur	Bermerkungen
160	A Ms.-P.	A Ms.-P. 0,01	lebt
200	B "	" " 0,01	† 1/2
200	C "	" " 0,01	† 3/4
200	D "	" " 0,01	† 1
230	—	" " 0,01	† 1/2 Kontrolle
180	A Ms.-P.	B Ms.-P. 0,01	† 3/4
200	B "	" " 0,01	lebt
200	C "	" " 0,01	† 3/4
210	D "	" " 0,01	† 1
200	—	" " 0,01	† 3/4 Kontrolle
200	A Ms.-P.	C Ms.-P. 0,001	† 3/4—1
140	B "	" " 0,001	† 1/2
180	C "	" " 0,001	lebt
190	D "	" " 0,001	† 1/2
150	—	" " 0,001	† 1/2 Kontrolle
180	A Ms.-P.	D Ms.-P. 0,01	lebt
200	B "	" " 0,01	† 1/2
180	C "	" " 0,01	† 3/4
200	D "	" " 0,01	lebt
235	—	" " 0,01	† 3/4 Kontrolle

schweinchen starben — wurde der ganze Versuch wiederholt mit folgendem in Tab. LIII niedergelegten Resultate. Das Serum erhielten die Tiere am 14. Nov. 1907 subkutan (0,1 ccm), die Kultur 24 Stunden später intraperitoneal.

Der Versuch ist, wie man sieht, bis auf die Prüfung A-Serum gegen D-Kultur, eindeutig ausgefallen. Die Mauspassagensera schützten nur gegen den homologen, nicht gegen die heterologen Stämme; d. h. die Stammverschiedenheit der 4 benutzten Coli-Stämme war auch nach den Mäusepassagen erhalten geblieben. Es ergibt diese passive Schutzprüfung, was die aktive Schutzprüfung ergeben hatte und was, wie wir sehen werden, auch die folgende Prüfung mit den Mn.-Passagestämmen und deren Seris ergab.

b) Passive Schutzprüfung mit den Meerschweinchenpassagenstämmen und den mit ihnen hergestellten Seris.

Der Versuch wurde ceteris paribus ebenso angestellt, wie der vorige. Die Versuchstiere erhielten am 7. Nov. 1907 das Serum (0,1 ccm) subkutan und am 8. Nov. 1907 (nach 24 Stunden) die Kultur intraperitoneal.

Tab. LIV. (Passive Schutzprüfung mit Mn.-P. Kulturen und deren Seris.)

Gew. des Mn.	Serum	Kultur	Bemerkungen
220	A Mn.-P.	A Mn.-P. 0,01	lebt
235	B „	„ „ 0,01	† 1
245	C „	„ „ 0,01	† $^3/_4$
245	D „	„ „ 0,01	† $^3/_4$
245	—	„ „ 0,01	† $^1/_2$—$^3/_4$ Kontrolle
250	A Mn.-P.	B Mn.-P. 0,01	† 1
232	B „	„ „ 0,01	lebt
225	C „	„ „ 0,01	† 1
230	D „	„ „ 0,01	† $^3/_4$
235	—	„ „ 0,01	† $^1/_2$—$^3/_4$ Kontrolle
225	A Mn.-P	C Mn.-P. 0,001	† $^3/_4$
245	B „	„ „ 0,001	† $^1/_2$—$^3/_4$
260	C „	„ „ 0,001	lebt
210	D „	„ „ 0,001	„
235	—	„ „ 0,001	† $^3/_4$ Kontrolle
285	A Mn.-P.	D Mn.-P. 0,01	† $1^1/_2$
270	B „	„ „ 0,01	† $^1/_2$—$^3/_4$
255	C „	„ „ 0,01	† $^3/_4$
215	D „	„ „ 0,01	lebt
230	—	„ „ 0,01	† $^1/_2$—$^3/_4$ Kontrolle

Es ist durch Versuch LIV auch für die Meerschweinchenpassagen nachgewiesen, daß die benutzten Kälberruhrcolikulturen sich bei der angegebenen Behandlung nicht derart gleichmäßig verändern, daß ein mit einem Stamm hergestelltes Serum gegen einen heterologen Stamm schützt; d. h. die Passagebehandlung der Stämme hat die Stammverschiedenheit nicht beeinflußt.

III. Agglutination.

Neben der aktiven und passiven Schutzprüfung stand mir noch eine dritte Methode, die der Agglutination, zur Verfügung, um einen eventuellen Verlust der Stammverschiedenheit der Kälberruhrcolistämme nach Passagen nachzuweisen. Durch die Entdeckung des Phänomens der Agglutination, das in einer Verklumpung und Immobilisierung der

Kultur durch das Serum besteht, ist man in die Lage versetzt, die Wirksamkeit eines Serums gegenüber einer Kultur zu beurteilen. Agglutinine durch Injektionen (subkutane oder intraperitoneale) normaler Menschendarmcoli zu erzeugen, ist vielen Forschern bei Meerschweinchen, Kaninchen und anderen Tieren gelungen. Joest (43) gibt an, daß mit Kälberruhrcolibacillen vorbehandelte Kaninchen ein Serum lieferten, das den benutzten Stamm sehr stark agglutiniere; dagegen besitze das Serum anderen Kälberruhr-Coli-Stämmen gegenüber keinen höheren Agglutinationswert als dem Bact. coli commune gegenüber, was ich auf Grund zahlreicher Agglutinationsversuche nicht bestätigen kann. Virulentere Coli-Stämme sollen nach Rothberger (44) die Bildung von Agglutininen mehr anregen, als wenig virulente, was ich für die Kälberruhr-Coli-Stämme durch meine Versuche bestätigen kann. Denn St. B. war vor der Passage wenig virulent und erzeugte keine Agglutinine, die anderen 3 Stämme waren virulenter als St. B.; sie erzeugten jeder gegen seinen homologen Stamm einen hohen Agglutinationswert im Serum, sowie auch gegen den einen oder anderen heterologen Stamm einen hohen Partialagglutinationswert.

Die „Spezifität" der Agglutination ist von Pfaundler (l. c.) an Seris von colierkrankten Menschen nachgewiesen. Er gab an, daß die Agglutination in dem Sinne eine elektive ist, als die aus dem Krankheitsherde gezüchteten (= „isohomologen") Coli-Stämme allein, oder in viel höherem Grade vom Serum beeinflußt werden, wie fremde heterologe Stämme. Rothberger (l. c.) konstatierte an immunisierten Tieren, daß Pfaundlers Gesetz in den allermeisten Fällen zutrifft. Für die Kälberruhrcolistämme konnte G. Neumann (l. c.) bestätigen, daß von einem Serum der isohomologe Stamm am stärksten agglutiniert werde. Das Eintreten der Partialagglutination hinderte, von einer „absoluten Spezifität" zu sprechen, darum sprach Pfaundler von einer „relativen". Absolut „spezifisch" sei nur die jeweilig maximale Agglutination.

Es fragte sich, ob bei den Seris, deren Gewinnung ich oben angegeben habe, die „relative Spezifität" so wie ich sie vor den Passagen gefunden hatte, in den Seris, die ich durch die Passagenstämme herstellte, erhalten geblieben war. Verlor sich die relative Spezifität derart, daß Agglutinationen und Partialagglutinationen dieselbe Höhe erreichten, so wäre damit nachgewiesen, daß die Agglutinine und auch die agglutinogene Substanz ihre Spezifität durch die Passagen eingebüßt hatten, d. h. daß ein Teil der Stammverschiedenheit verloren gegangen sei.

Ich agglutinierte darum mit den vier erhaltenen Seris der Anfangskulturen und dann mit den elf Seris der Passagenkulturen die homologen, resp. heterologen Anfangs- resp. Passagenstämme und fand die in Tab. LV und LVI niedergelegten Agglutinationswerte.

Zur Technik bemerke ich, daß zunächst Serumverdünnungen mit einer 0,85-proz. NaCl-Lösung hergestellt wurden. Von diesen wurde je 1 ccm in sterile Reagensgläschen pipettiert. Als Kultur benutzte ich eine 24-stündige Agaraufschwemmung, die nach dem Aufschwemmen durch ein steriles Papierfilter geschickt wurde. Von dieser Kulturaufschwemmung tat ich 3 Tropfen (= 0,1 ccm) in die Reagenzgläschen und verteilte durch Schütteln Kultur- und Serumverdünnung gleichmäßig. Als Kontrolle wurde ein Gläschen mit einer 0,85-proz. NaCl-Lösung benutzt, das kein Serum erhalten hatte. Kontrollen von normalem Kaninchen- bezw. Meerschweinchenserum stellte ich nicht an, da die kleinste Serumverdünnung, mit der ich arbeitete, 1:50 war, in welcher

Verdünnung das Normalserum nur sehr selten agglutiniert. Nach dem Beschicken der Gläschen mit den Kulturen wurden die Gläschen auf 2 Stunden bei 37 ° C im Brutschrank gehalten und das Resultat makroskopisch beurteilt.

Tabelle LV. (Agglutinationen der Anfangsstämme mit ihren Seris.)
(cf. Tab. XLIV bis XLVII.)

	A-Serum	B-Serum	C-Serum	D-Serum
A-Kultur	1:3200	negativ	negativ	1:1600
B „	negativ	1:200 undeutlich	negativ	negativ
C „	negativ	negativ	1:6400	negativ
D „	1:1600	negativ	1:3200	1:3200

Aus der Tabelle ergibt sich, daß keins der benutzten Kälberruhrsera einen heterologen Stamm so hoch beeinflußte, wie den homologen. Es bestand also für die einzelnen Sera und Stämme eine Spezifität, die teils relativ (A-Serum für D-Kultur; C-Serum für D-Kultur; D-Serum für A-Kultur), teils absolut war (A-Serum für B- und C-Kultur; C-Serum für A- und B-Kultur; D-Serum für B- und C-Kultur.) Wiederholungsversuche ergaben dasselbe Resultat. Es gelang bei 3 Immunisierungsversuchen kein agglutinierendes Serum mit St. B zu erlangen.

Trotz der hohen Agglutinationswerte auf heterologe Stämme zeigten die benutzten Sera keine schützenden Eigenschaften gegen diese Stämme. Es ist auf diese Eigentümlichkeit von Pfeiffer und Kolle (45) hingewiesen worden, die angeben, daß kein Parallelismus zwischen agglutinierender und bakteriolytischer Fähigkeit eines Serums bestehe; gebe es doch Normal- und Immunsera, denen nur eine der beiden Fähigkeiten zukomme. Dieses wurde bestätigt durch Versuche von Kruse (46), Goldberg (47), Gheorgowsky (48), Wassermann (49), Aronson (50) und Defall (51).

In Tab. LV ist interessant das Verhältnis, wie es zwischen A-Serum und D-Kultur, bezw. D-Serum und A-Kultur einerseits und C-Serum und D-Kultur, bezw. D-Serum und C-Kultur andererseits herrscht. A-Serum beeinflußte den Stamm D bis zu ganz derselben Höhe, wie D-Serum den Stamm A; während C-Serum den Stamm D hoch agglutinierte, übte das Serum des Stammes D keinen agglutinierenden Einfluß auf Stamm C aus. Stamm D wurde also von seinem homologen Serum und außerdem von zwei heterologen Seris beeinflußt, während D-Serum außer dem homologen Stamm nur einen Stamm (St. A) agglutinirte.

Stamm A und D sind etwa gleich virulent; sie hätten, wenn der Virulenzunterschied über das Auftreten von Agglutininen entschiede, beide den Stamm B agglutinieren müssen, da dieser bei weitem weniger virulent war. Dies war nicht der Fall. Außerdem hätte Stamm C, der virulenteste der 4 Stämme, gegen die 3 anderen Stämme Agglutinine bilden müssen, wenn der Virulenzunterschied der Kulturen über das Auftreten der Partialagglutinine und deren Menge im Serum entschiede. Auch dieses war nicht der Fall. Der Virulenzunterschied zwischen zwei Stämmen entscheidet also nicht über die Höhe der Partialagglutination, die die Sera dieser Stämme auf den jeweilig heterologen Stamm ausüben. Ein weniger virulenter Stamm kann ein stark agglutinierendes Serum für einen stärker virulenten Stamm erzeugen, ohne daß umgekehrt derselbe stärker virulente Stamm ein stark agglutinierendes Serum für denselben weniger virulenten Stamm erzeugen muß.

Man könnte einwenden, daß, wenn auch bei der Immunisierung der benutzten Kaninchen fast dieselben Immunisirungsschemata angewendet wurden, doch für das Auftreten der Agglutininine und Partialagglutine im Serum mit dem Versuchstier als gleichbleibendem Faktor nicht gerechnet werden darf. Ein Tier derselben Art könnte sich zur Agglutininbildung besser eignen, als ein anderes. Ich versuchte darum mit allen vier Stämmen gleichzeitig ein und dasselbe Tier (Mn.) zu immunisieren. Ich benutzte ein Meerschweinchen, das in 8-tägigen Intervallen vom Peritoneum aus immunisiert wurde, bis es schließlich als Höchstdosis 0,3 ccm intraperitonal erhielt.

Die Immunisierungskulturen wurden folgendermaßen behandelt. Ich tat von jedem der 4 Stämme eine kleine Oese in ein Bouillonkulturröhrchen, ließ die Kultur im Brutschrank bei 37° wachsen und impfte zwei große Oesen auf Schrägagar ab, und zwar benutzte ich für alle 4 Stämme dieselbe Agarkultur. Aus dem Kondenswasser, das also alle 4 Stämme enthalten mußte, legte ich die zur Immunisierung des Meerschweinchens verwendete Impfbouillon an, die nach eintägigem Wachstum im Brutschrank benutzt wurde. Das Agglutinationsergebnis war, daß der virulenteste Stamm (C) in einer Verdünnung von 1:12800, die fast gleich Virulenten Stämme (D und A) in einer Verdünnung von 1:6400 bezw. 1:800 agglutiniert wurden, während Stamm B, der am wenigsten virulente, unbeeinflußt blieb. Die Virulenz der Stämme und der Agglutinationstitre des mit ihnen hergestellten (multipartialen) Serums stand bei dieser Versuchsanordnung in einem Parallelverhältnis.

Die Agglutinationen mit den Passagenkulturen und den Passagenseris wurden ebenso ausgeführt, wie die vorhin beschriebenen. Es kam, wie erwähnt, darauf an, nachzuweisen, ob die erwähnten Passagen eine Veränderung derart herbeiführen könnten, daß die agglutinogene Substanz der Bakterien gleichmäßig in einem Sinne durch den Tierkörper beeinflußt werde. Diese ev. Veränderung in der Stammverschiedenheit oder besser, diese Abschwächung und Aufhebung der Stammverschiedenheit mußte sich darin aussprechen, daß die mit den Mauspassagenkulturen hergestellten Sera auch die heterologen Mauspassagenkulturen bis zur Titrehöhe agglutinierten; daß ein gleiches ceteris paribus für die Meerschweinchenpassagen zutraf. Zu der Tab. LVI ist zu bemerken, daß die Sera von den oben beschriebenen Immunisierungsversuchen (Tab. XLIX bis LII herstammten. Die wagerechten Reihen geben die Kulturen, die senkrechten die Sera an. Es ist noch nötig zu erinnern, daß die Virulenz der Kulturen durch die Passagen teilweise recht erheblich gesteigert wurde. Nach den Passagen erhielt ich höhere Agglutinationswerte als vor den Passagen: St. B. erzeugte vor der Passage keine Agglutinine, nach der Passage konnte er ein sehr stark agglutinierendes Serum (bis 1:25600) erzeugen. Es können also Virulenz- und Agglutinationstitre desselben Stammes im Parallelverhältnis stehen.

A-Serum agglutinierte vor den Passagen B-Kultur gar nicht, trotzdem es über einen hohen Agglutinationstitre dem homologen Stamm und dem heterologen Stamm D gegenüber verfügte, während A Ms.-P. Serum den Stamm B Ms.-P.-Kultur fast bis zur Titrehöhe (1:3200) und A Mn.-P. Serum den Stamm B Mn.-P.-Kultur hoch (1:800) agglutinierte.

A-Serum agglutinierte vor den Passagen D-Kultur hoch, aber nicht bis zur Titrehöhe, während A Ms.-P.-Serum und A Mn.-P.-Serum den Stamm D Ms.-P. bezw. D Mn.-P.-Kultur bis zur Titrehöhe agglutinierten.

Tabelle LVI. (Agglutination der Passagenkulturen mit den Seris 49—52.)

Serum	Kultur	1 Serum der A Ms.-P.	2 Serum der B Ms.-P.	3 Serum der C Ms.-P.	4 Serum der D Ms.-P.	5 Serum der A Mn.-P.	6 Serum der B Mn.-P.	7 Serum der C Mn.-P.	8 Serum der D Mn.-P.	9 Serum der A T.-P.	10 Serum der B T.-P.	11 Serum der C T.-P.	12 Serum der D T.-P.
a	A Ms.-P.	1:6400	1:3200	negativ	1:800	1:3200	1:3200	negativ	1:800	1:800	1:25 600	fiel aus	1:800
b	B Ms.-P.	1:3200	1:25 600	negativ	?	1:800	1:3200	negativ	1:800	1:800	1:12 800		1:400
c	C Ms.-P.	negativ	negativ	1:6400	1:3200	negativ	negativ	1:6400	1:400	negativ	negativ		1:1600
d	D Ms.-P.	1:6400	1:50 undeutl.	1:6400	1:3200	1:3200	1:1600	1:6400	1:1600	1:400	1:400		1:1600
e	A Mn.-P.	1:6400 deutlich, 1:3200 undeutlich	1:800	negativ	1:800	1:3200	1:3200	negativ	1:800	1:400	1:400 trübe	fiel aus	1:400
f	B Mn.-P.	1:3200	1:1600	negativ	1:800	1:800	1:3200	negativ	fiel aus	1:800	1:200		1:400
g	C Mn.-P.	negativ	negativ	1:6400	1:3200 trübe	negativ	negativ	1:6400	1:800	negativ	negativ		1:800
h	D Mn.-P.	1:6400	Pseudo-agglutination	1:6400	1:3200	1:3200	1:3200	1:6400	1:1600	1:800	1:400 (?)		1:1600
i	A T.-P.	1:1600	1:3200	negativ	1:1600	1:3200	1:3200	negativ	1:800	1:800—1000	1:100	fiel aus	1:400
k	B T.-P.	negativ	1:1600	negativ	1:800	1:800	1:3200	negativ	1:100—200	1:800	1:800		1:400
l	C T.-P.	1:800 undeutl.	negativ	?	1:100 trübe	negativ	negativ	fiel aus	1:100 trübe	negativ	negativ		1:100 trübe
m	D T.-P.	1:1600	Pseudo-agglutination	1:3200	1:1600	1:1600	1:3200	1:3200	1:1600	1:800	1:200		1:1600
Serumtier		Mn.	Kn.	Kn.	Mn.	Mn.	Mn.	Kn.	Mn.	Kn.	Kn.		Mn.

B-Serum kann nicht gut zum Vergleich herangezogen werden, weil es mit der Anfangskultur nicht gelang, Agglutinine zu erzeugen; doch weise ich darauf hin, daß B Mn.-P.-Serum die Stämme A Mn.-P. und D Mn.-P. bis zur Titrehöhe agglutinierte.

C-Serum agglutinierte vor und nach der Passage den St. D sehr hoch; das Auftreten neuer Agglutinine für St. A und B konnte nicht nachgewiesen werden.

D-Serum agglutinierte den St. C vor der Passage gar nicht, nach der Ms.-P. bis zur Titrehöhe, nach der Mn.-P. fast bis zur Titrehöhe. In dem Verhältnis zum St. A wurde durch die Passagen keine Veränderung hergestellt.

Auf Grund des Vorhergehenden schließe ich, daß die Stammverschiedenheit, soweit sie sich auf die Spezifität der Agglutination stützen kann, durch Passagen verwischt werden kann.

Mit Hilfe der Tournee-Passagenkulturen ließen sich übermäßig hohe Agglutinationswerte nicht erreichen, wie mit Hilfe der Ms.- und Mn.-Passagen. Auch finden sich hier derartige Schwankungen, daß sie zur Klärung der angeschnittenen Fragen nicht herangezogen werden können.

Wenn man nun zum Schluß die hohen Agglutinationswerte, die ich durch die Ms.- und Mn.-P. erzielen konnte, damit vergleicht, daß dieselben hochagglutinierenden Sera oft keinen Schutz ausüben konnten, so muß man zu dem Schluß kommen, daß das Auftreten der Agglutinine zur Beurteilung der Schutzkraft eines Serums nicht herangezogen werden darf. Das Auftreten der Agglutinine ist eine Infektions-, keine Immunitätsreaktion.

Zusammenfassung.

1) Eine wesentliche Virulenzverminderung bei Kälberruhr-Coli-Stämmen ist, wenn sie auf künstlichen Nährböden gehalten werden, innerhalb einer Beobachtungszeit von 2 Jahren nicht zu konstatieren.

2) Durch öfteres Umstechen von Gelatine zu Gelatine oder von Milch zu Milch läßt sich die Virulenz der Kälberruhrcolibakterien nicht erhöhen. Der Gelatinenährboden scheint für die Züchtung der Kälberruhrcolibakterien geeigneter zu sein als der Milchnährboden.

3) Die Angabe Jensens, daß durch Meerschweinchenpassage für Meerschweinchen eine Virulenzsteigerung der Kälberruhrcoliarten eintritt, trifft für wenig- und hochvirulente Stämme zu.

4) Durch Mauspassagen gelingt es nicht, die Kälberruhrcolibakterien derart in ihrer Virulenz zu erhöhen, daß sie mit Regelmäßigkeit Mäuse in kleinen Dosen töten.

5) Durch Mauspassagen gelingt es, die Virulenz der Kälberruhrcolibakterien zum Teil recht erheblich für Meerschweinchen zu erhöhen.

6) Durch Meerschweinchenpassagen läßt sich eine Virulenzsteigerung der Kälberruhrcolibakterien für Mäuse nicht erreichen; es kann eher eine Virulenzverminderung für Mäuse eintreten.

7) Es gelingt nur schwer, Mäuse mit Kälberruhrcoli hoch zu immunisieren.

8) Durch Immunisierung von Mäusen können sich bei diesen Erscheinungen einer Resistenzerhöhung gegen andere Stämme geltend machen.

9) Die tödliche Infektion mit Kälberruhrcoli ist bei Meerschweinchen seltener von der Subcutis als vom Peritoneum zu erreichen.

10) Gelingt es, einen Kälberruhrcolistamm durch Passage virulenter zu machen, so erzeugt dieser virulenter gewordene Stamm ein stärker agglutinierendes Serum, als der weniger virulente Anfangsstamm.

11) Die Virulenz eines Kälberruhrcolistammes allein entscheidet nicht über die Höhe der Partialagglutination. Ein weniger virulenter Stamm kann ein stark agglutinierendes Serum für einen stärker virulenten Stamm erzeugen, ohne daß umgekehrt derselbe stärker virulente Stamm ein stark agglutinierendes Serum für denselben weniger virulenten Stamm liefern muß.

12) Immunisiert man mit mehreren Kälberruhrcolikulturen ein und dasselbe Tier, so kann zwischen den erzeugten Agglutininen der einzelnen Stämme und der Virulenz ein Parallelverhältnis bestehen, vorausgesetzt, daß die benutzten Immunisierungsdosen die gleichen waren und die Injektion gleichzeitig erfolgte.

13) Die Stammverschiedenheit der Kälberruhrcolistämme, die sich dadurch ausdrückt, daß

1) das Serum eines Stammes nur gegen den homologen, nicht gegen einen heterologen Stamm schützt, und
2) ein mit einem Kälberruhrcolistamm hoch immunisiertes Versuchstier gegen einen anderen Stamm nicht immun ist,

läßt sich durch gleichmäßige Passagebehandlung nicht verwischen oder aufheben.

14) Die Stammverschiedenheit der Kälberruhrcolistämme, wie sie sich durch die „Spezifität“ der Agglutination ausdrückt, kann sich durch Passagen verwischen resp. aufheben lassen.

15) Die Agglutinationskraft eines Kälberruhrserums und deren Höhe kann zur Beurteilung seines Gehaltes an Immunkörpern nicht herangezogen werden.

Für die Ueberlassung des Materials, sowie für das stete Interesse, das Herr Dr. Schreiber dieser Arbeit entgegenbrachte, sage ich ihm an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank.

Literatur.

1) Wossnessensky, Comptes rend. de l'acad. T. XXXVIII.
2) Chauveau, ibid. T. XXXVIII.
3) Arloing, ibid. T. CI. 1885.
4) Pasteur, ibid. T. XC. 1880.
5) Chamberland und Roux, ibid. T. XCVI. 1883.
6) Friedberger, E., Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Kolle-Wassermann). Bd. I. 1903. p. 516.
7) Escherisch u. Pfaundler, ibid. Bd. II. 1903.
8) Rodet u. Roux, Bacille d'Eberth et Bacillus coli. (Arch. de méd. expér. 1892.)
9) Vallet, Le Bacillus coli communis de ses rapports avec le Bacillus d'Eberth et l'étiologie de la fièvre typhoide. Thèse de Lyon, 1892.
10) Gilbert u. Girode, zitiert nach Kolle-Wassermann. (Handb. der path. Mikroorganismen. Bd. II. 1903.)
11) Demel u. Orlandi, Giornale della r. accademia di med. 1893. (Ref. im Jahrbuch für Tierchemie. Torino 1894.)
12) Vidal u. Besançon, zitiert nach Nobécourt (13).
13) Nobécourt, Association streptobacillaire, chez le cobaye. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899.)
14) Coco, Il colibacillo ed i cocchi piogeni nell' etiologia della febbri intestinali. (Gaz. degli osped. 1898.)
15) Agrò, Dell' azione patologica simultanea delle culture a simbiosi de B. coli e B. colerigeno. (Annali d'igieni sperim. 1895.)
16) Neumann, Beitrag zur Biologie des Erregers der Kälberruhr. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIV. 1907. Heft 3. p. 213.)

17) Pasteur, Compt. rend. de l'acad. T. XCVII. 1883.
18) Smirnow, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. IV. 1889.
19) Chauveau, Comptes rend. de l'acad. T. CVIII.
20) Gramatschikoff, Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. II. 1891.
21) Czaplewski, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XII. 1892.
22) Kolle u. Martini, Deutsche med. Wochenschr. 1892.
23) Uhlenhuth, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVI. 1897.
24) Kollmann, Hyg. Rundschau. 1897.
25) Demel u. Orlandi, siehe 11.
26) Sanarelli, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1894.
27) Neisser, Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XXIII. 1893.
28) Rodet u. Guéchoff, Compt. rend. de la soc. de biol. 1900.
29) Jensen, Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. IX. 1905. p. 97.
30) —, Monatshefte f. prakt. Tierheilk. Bd. IV. 1892. p. 97.
31) —, Monatsskrift for Dyrlaeger. Vol. XII. 1901. p. 297.
32) Poels, Rapport over de Kalverziekte in Nederland. Rotterdam 1899.
33) Jensen, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Kolle-Wassermann). Bd. III. 1903. p. 772.
34) Dreyfuss, Inaugural-Dissertation Straßburg, 1894.
35) Jensen, siehe 31.
36) Walker, Journ. of Path. and Ther. Vol. 8. 1902; Ref. im Centralbl. f. Bakt. etc. 1903. p. 115.
37) Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 4.
38) Rodet, zitiert in Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I. p. 399.
39) Pfaundler, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. IV, 2. 1904. p. 903.
40) Demel u. Orlandi, Mitteilungen aus dem XI. internationalen Kongreß in Rom. 1904. Vol. II.
41) Löffler u. Abel, Centralbl. f. Bakt. etc. 1896.
42) Pfaundler u. Gratz, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Kolle-Wassermann). Bd. IV, 2. 1904. p. 905.
43) Joest, Zeitschr. f. Tiermedizin. 1903. p. 372.
44) Rothberger, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.
45) Pfeiffer u. Kolle, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI. 1896. p. 203.
46) Kruse, zitiert nach Castellani 1901. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901. p. 34.
47) Goldberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. p. 605.
48) Gheorgowsky, Annales Pasteur. T. XIII. 1899. p. 298.
49) Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. p. 267.
50) Aronson, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1903. p. 54.
51) Defall, Annales Pasteur. T. XVI. 1902.

Ueber das Verhalten des Hühnerpestvirus im Zentralnervensystem empfänglicher, natürlich und künstlich unempfänglicher Tiere.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. R. Paltauf)].

Von Prof. **R. Kraus** und k. u. k. Reg.-Arzt Dr. **R. Doerr.**

I.

Die Tatsache, daß Hühnerpestvirus für Hühner äußerst infektiös ist, für Tauben dagegen viel weniger, für Kaninchen gar nicht, legte den Gedanken nahe, die von Kraus, Keller und Clairmont (3) studierten Fortpflanzungsverhältnisse des Lyssavirus im Zentralnervensystem empfänglicher, minder empfänglicher, natürlich immuner und immunisierter Tiere auf das Hühnerpestvirus zu übertragen. In der eben erwähnten

Arbeit wurde festgestellt, daß sich das Lyssavirus im Gehirn der empfänglichen Kaninchen gleichmäßig fortpflanze; auch bei weniger empfänglichen Tieren, wie Hühnern, Tauben, findet jedoch eine Fortpflanzung und Vermehrung statt, wenn es auch nicht konstant gelingt, das Virus durch Ueberimpfung nachzuweisen.

Im Gehirn der immunisierten Kaninchen dagegen geht das Lyssavirus regelmäßig und zwar schon in kurzer Zeit zugrunde.

Unsere Versuche gingen also dahin, nachzuschauen, ob die Fortpflanzung Vermehrung oder des Hühnerpestvirus im Zentralnervensystem in Beziehung zur Empfänglichkeit oder Unempfänglichkeit des Tieres zu bringen sein dürfte.

Versuche an Hühnern.

I. Ein Huhn wird ins Vorderhirn am 7. Nov. um 6 Uhr abends mit Hühnerpestvirus geimpft, am 8. Nov. um 12 Uhr mittags, also nach 18 Stunden, durch Chloroform getötet und das Brustmark sowie Kleinhirn unter allen Kautelen entnommen, beide gesondert mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben und die Emulsionen sofort zwei anderen Hühnern intramuskulär injiziert.

Kleinhirn: schwarzes Huhn † 9. Nov.

Brustmark: schwarzweiß gesprenkeltes Huhn † 12. Nov.

II. Ein Huhn, wie oben geimpft am 16. Nov., nach 18 Stunden wird Blut entnommen, defibriniert und davon 2 ccm am 17. Nov. einem gelben Hahn intramuskulär injiziert. † 22. Nov.

Nach 24 Stunden wird abermals Blut entnommen und am 17. Nov. auf ein zweites Huhn intramuskulär übertragen. † am 20. Nov.

III. Ein Huhn, wie oben geimpft ins Vorderhirn; das Tier wird nach 6 Stunden entblutet, sodann das Brustmark unter aseptischen Kautelen entnommen und emulgiert.

Das Blut (2 ccm) intramuskulär auf ein braunes Huhn übertragen am 9. Nov. † 13. Nov.

Die Brustmarkemulsion einem graugesprenkelten Huhn injiziert; das Tier überlebt.

Das Virus war also bei cerebraler Impfung schon nach 18 Stunden im Kleinhirn und Brustmark nachweisbar, während nach 6 Stunden das Brustmark noch nicht infektiös war. Daraus würde hervorgehen, daß sich das Virus im Zentralnervensystem des Huhnes ziemlich schnell fortpflanzt.

Daß das Blut und die Organe, speziell das Zentralnervensystem, intramuskulär infizierter Hühner, die bekanntlich nach 24—48 Stunden eingehen, nach dem Tode stets virulent ist, lehren ja die zahlreichen Uebertragungsversuche, die von den verschiedensten Autoren (Kleine, Möllers) (5) vorgenommen wurden.

Versuche an immunisierten Gänsen.

Auch bei cerebral geimpften und an Hühnerpest verendeten Gänsen ist das Rückenmark infektiös (Kraus und Schiffmann).

Immunisiert man aber ältere Gänse von der Subcutis aus mit Hühnerpestvirus, so bleiben dann die Tiere bei cerebraler Infektion selbst mit konzentriertem Virus am Leben (Kraus und Schiffmann), wogegen gesunde Gänse bei diesem Infektionsmodus konstant zugrunde gehen. Untersucht man verschiedene Zeit nach cerebraler Infektion Gehirn und Rückenmark solcher immunisierter Gänse auf seine Infektiosität, so konstatiert man, daß konzentriertes Virus schon kurze Zeit nach der Infektion aus dem Zentralnervensystem verschwunden sein kann.

I. Eine immunisierte Gans wird am 16. Nov. mit konzentriertem Virus ins Vorderhirn geimpft, nach **6 Stunden** entblutet, das Gehirn emulgiert und intramuskulär einem Huhn injiziert. Das Huhn verendete am 19. Nov. an Hühnerpest.

II. Eine immunisierte Gans am 7. Nov. intracerebral mit Virus geimpft und am 10. Nov., also nach 3 Tagen, entblutet. Ihr Gehirn (und zwar die Umgebung der Injektionsstelle) emulgiert und einem Huhn intramuskulär injiziert. Das Tier überlebte.

III. Immunisierte Gans, intracerebral geimpft am 7. Nov., nach 18 Stunden entblutet. Das Brustmark wird emulgiert und einem Huhn injiziert. Ueberlebt.

Nach 6 Stunden war also das Virus noch im Gehirn der Immungänse nachweisbar, nach 18 Stunden erwies sich das Brustmark und am 3. Tage sogar die Injektionsstelle nicht mehr infektiös.

Dieses Verhalten entspricht in jeder Hinsicht den Erfahrungen, welche man bei den mit Lyssavirus immunisierten Kaninchen gewonnen hat. Cerebral einverleibtes Lyssavirus geht im Gehirn immunisierter Kaninchen rasch zugrunde, während bei gesunden Kaninchen eine rasche Vermehrung erfolgt.

Nach diesen Ergebnissen war es interessant, zu erfahren, wie sich das Virus in den weniger empfänglichen Tauben verhält.

Versuche an Tauben und Kaninchen.

Aeltere Tauben sind im allgemeinen gegen Hühnerpest ziemlich resistent. Nur wenige gehen nach einer gewissen Zeit (3—10—15 Tagen) zugrunde, die Mehrzahl überlebt.

Bringt man Hühnerpestvirus ins Gehirn der Taube ein, so läßt es sich daselbst nach 4, 6, 10 und 15 Tagen mittels intramuskulärer Impfung von Hühnern nachweisen. Da ferner das Brustmark schon 24 Stunden nach der cerebralen Impfung infektiös wird, so muß eine Vermehrung oder Fortpflanzung des Virus stattfinden. Trotzdem also die Taube bei intramuskulärer oder cerebraler Impfung in der Regel nicht an Hühnerpest erkrankt, verhält sich das Virus in bezug auf seine Fortpflanzung beziehungsweise Vermehrung ähnlich wie beim empfänglichen Huhn oder bei den nicht immunen alten Gänsen. Die Resistenz der Tauben kann demnach, wie auch die später mitzuteilenden Versuche mit Taubenserum lehren, nicht mit der Unmöglichkeit einer Vermehrung des Infektionsstoffes in Zusammenhang gebracht werden, vielmehr müssen wir, ebenso wie bei der Lyssa, die Unempfänglichkeit auf eine Unempfindlichkeit der Zellen gegenüber dem Virus oder seinen Giften beziehen.

Das Hühnerpestvirus wird im Taubengehirn in seiner Lebensfähigkeit nicht geschädigt, es vermehrt sich oder pflanzt sich sogar fort, findet aber keine Angriffspunkte, um pathogene Wirkungen (Krankheit) zu entfalten.

Allerdings scheint die Vermehrung des Virus im Zentralnervensystem der Taube nicht so intensiv zu sein wie beim Huhn. Es gehen die mit dem Rückenmark und Gehirn cerebral infizierter Tauben geimpften Hühner nicht so konstant wie die Kontrollen regelmäßig in 2—3 Tagen ein, sondern manchmal erst später, nach 4, 7, 13 Tagen.

Zum Teil ähnlichen Verhältnissen wie bei der Taube begegnen wir bei den vollständig refraktären Kaninchen. Wie wir erwähnt haben, muß die Möglichkeit zugegeben werden, daß Tauben bisweilen an Hühnerpest zugrunde gehen können; allerdings ist der experimentelle Beweis hierfür schwer zu erbringen, da uns die weitere Passage auf Hühner und Tauben stets mißglückte. (Vielleicht läßt sich die Empfänglichkeit der

Taube für Hühnerpest auf einem anderen Wege, nämlich histologisch durch den Nachweis der Hühnerpestkörperchen, erweisen.) Bei Kaninchen haben wir überhaupt keine Anhaltspunkte dafür, daß solche individuelle Empfänglichkeiten für Hühnerpestvirus existieren wie bei den Tauben, so daß wir sie also zurzeit als vollkommen immun betrachten können.

Tauben, welche cerebral Hühnerpestvirus erhielten, wurden nach verschiedenen Intervallen durch Entbluten getötet, das defibrinierte Blut, das Gehirn und Brustmark auf Hühner intramuskulär übertragen.

Intervall zwischen cerebraler Impfung der Tauben und Prüfung der Infektiosität der Organe	Resultate der intramuskulären Impfung von Hühnern mit		
	Gehirn	Brustmark	Blut
24 Stunden	—	† nach 20 Tagen	† nach 3 Tagen
30 „	—	† „ 4 „	† „ 9 „
48 „	—	† „ 3 „	† „ 3 „
3 Tagen	† nach 2 Tagen	—	—
4 „	† „ 2 „	—	—
6 „	† „ 3 „	—	—
6 „	—	† nach 2 Tagen	—
8 „	—	† „ 7 „	überlebt
10 „	† nach 4 Tagen	—	—
15 „	† „ 13 „	—	überlebt

Es hat sich ergeben, daß das Brustmark der Kaninchen schon 24 und 48 Stunden nach der Impfung des Vorderhirns infektiös sein kann; allerdings gingen die damit geimpften Hühner regelmäßig erst nach längerer Zeit (6—9 Tagen) zugrunde. Da das Gehirn, und zwar die Injektionsstelle der gleich lange cerebral geimpften Kaninchen nach 1—3 Tagen noch ungeschwächte Virulenz besaß (s. Tabelle), insofern, als die damit geimpften Hühner prompt verendeten, so müssen wir hier (ebenso wie bei den Tauben) die verlängerte Inkubation nach der Infektion mit Kaninchenbrustmark eher auf eine starke Verdünnung des Virus infolge geringer Vermehrungsfähigkeit als auf eine Abschwächung durch Passage beziehen.

Wurde aber die Infektiosität des Gehirns der infizierten Kaninchen nach einem längeren Zeitraum als nach 3 Tagen geprüft, etwa nach 5 oder 6 Tagen, so traten Differenzen zwischen minder

Versuche an Kaninchen.

Die Tiere werden ins Vorderhirn mit konzentriertem Hühnerpestvirus geimpft und nach verschiedenen Intervallen getötet. Blut, Gehirn, Brustmark wurden auf ihre Infektiosität durch intramuskuläre Impfung von Hühnern geprüft.

Intervall zwischen cerebraler Impfung der Kaninchen und Prüfung der Infektiosität ihrer Organe	Resultate der intramuskulären Impfung von Hühnern mit		
	Gehirn	Brustmark	Blut
48 Stunden	† nach 2 Tagen	—	—
48 „	† „ 2 „	—	—
3 Tage	† „ 3 „	—	—
5 „	überlebt	—	—
6 „	„	—	—
24 Stunden	—	† nach 6 Tagen	überlebt
48 „	—	† „ 6 „	„
4 Tage	—	überlebt	„

empfänglichen und refraktären Tieren, also zwischen Taube und Kaninchen, hervor, die sich bis zu dieser Zeit, wie wir gesehen haben, ganz gleich verhielten. Die Injektionsstelle cerebral geimpfter Kaninchen war nach 5 bis 6 Tagen nicht mehr infektiös; es geht also das Virus im Gehirn der unempfänglichen Species nach viel kürzerer Zeit zugrunde als bei den Tauben, wo es sich noch nach 15 Tagen experimentell nachweisen läßt. Bemerkenswert ist immerhin, daß sich das Virus im Zentralnervensystem der Kaninchen eine Zeitlang erhält, ja sogar fortpflanzt, indem es nach 1—2 Tagen im Rückenmark noch nachweisbar ist.

II.

Ebenso wie Kraus, Keller und Clairmont in ihren Versuchen als Ursachen für die natürliche und künstliche Unempfänglichkeit der Tiere gegen das Lyssavirus die Rabizidie des Serums in Betracht gezogen haben, versuchten auch wir hier die natürliche Immunität in Beziehung zu den virusschädigenden Eigenschaften des Blutes zu bringen.

Die Versuche mit dem Serum der gegen Lyssa unempfänglichen und empfänglichen Tiere haben gelehrt, daß das Serum natürlich resistenter Tiere im Gegensatze zu dem immunisierter Kaninchen ebensowenig rabizide Eigenschaften besitzt, wie das der empfänglichen.

In unseren Versuchen ließ sich gleichfalls konstatieren, daß das Serum normaler Hühner, Tauben, Kaninchen und Gänse nicht imstande ist, in Mengen von 1 ccm Hühnerpestvirus (1 : 5000) zu zerstören. Es würde demnach auch in diesem Falle die Unempfänglichkeit der Kaninchen und Tauben nicht ohne weiteres humoral zu erklären sein, eher dürfte die Phagocytose hierfür verantwortlich gemacht werden.

Aus den früheren Tabellen ist auch zu entnehmen, daß sich bei cerebral infizierten Tauben die Infektiosität des Blutes nach 24 und 48 Stunden nachweisen läßt, während nach 8 und 15 Tagen, zu einer Zeit also, wo das Zentralnervensystem noch virulent war, kein Virus mehr in der Blutbahn kreiste. Bei Kaninchen zeigte das Blut schon nach 24 und 48 Stunden eine Abnahme, ja in manchen Versuchen ein vollständiges Fehlen der Infektiosität. Dies dürfe ebenfalls nach den negativen Versuchen über die schädigenden Eigenschaften des Blutserums wohl in anderen Momenten, vielleicht auch in der Phagocytose, seine Ursache haben.

Wirkung der Normalsera empfänglicher, minder empfänglicher, resistenter und immunisierter Tiere auf Hühnerpestvirus.

Frisches Gehirn (1 g) von einem eingegangenen Huhn, mit steriler Kochsalzlösung (10 g) verrieben, durch Papier filtriert und 5000-fach mit NaCl verdünnt. Von dieser Verdünnung wurde je 1 ccm mit dem Serum versetzt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann einem Huhn intramuskulär injiziert.

1. Serum von einem normalen Huhn 1,0 + 1,0 Virus, nach 24 Std. auf Huhn 864, † nach 2 Tagen
2. „ „ „ 2. „ „ 1,0 + 1,0 „ „ 24 „ „ „ 872, † „ 2 „
3. „ „ „ „ Kaninch. 1,0 + 1,0 „ „ 24 „ „ „ 873, † „ 2 „
4. „ „ einer „ Taube 1,0 + 1,0 „ „ 24 „ „ „ 875, † „ 3 „
5. „ „ „ 2. „ „ 1,0 + 1,0 „ „ 24 „ „ „ 879, † „ 2 „
6. „ „ „ „ Gans 1,0 + 1,0 „ „ 24 „ „ „ 878, † „ 2 „
7. „ „ „ immunis. „ 0,1 + 1,0 „ „ 24 „ „ „ 874, † „ 5 „
8. „ „ „ „ „ 0,5 + 1,0 „ „ 24 „ „ „ 776, Ueberlebt

Kontrolle: 1,0 Virus nach 24-stündigem Stehen 876, † nach 2 Tagen

Wie man aus vorstehender Tabelle ersieht, vermag das Serum immunisierter Gänse im Gegensatz zu dem Verhalten des Serums unempfänglicher Tiere das Virus in vitro zu zerstören, so daß die künstliche Unempfänglichkeit, ähnlich wie bei der Lyssa, wenigstens zum Teil auf der virusschädigenden Eigenschaft des Blutes beruhen dürfte.

Bei dieser Gelegenheit möchten wir bezüglich der bei solchen Versuchen zu beobachtenden Technik wieder auf eine bereits bei der Lyssa festgestellte Erscheinung hinweisen, aus welcher hervorgeht, daß die Wertbestimmung des Serums nur möglich ist, wenn das Virus keine ungleichmäßigen Partikelchen enthält (Papierfiltration) und wenn es entsprechend seiner kolossalen Infektiosität 5000—10000-fach verdünnt ist. Zur Illustration sei auch folgender Versuch angeführt.

Virus (Gehirn v. Huhn) (1:10000) 1,0 + 0,1 Serum v. Gans 1 nach 24 Std. Huhn 1 intram. Ueberlebt
„ „ „ (1:10000) 1,0 + 0,05 „ „ „ 1 „ 24 „ a. Huhn 2 intram. † n. 5 Tag.
„ „ „ (1:10000) 1,0 + 0,1 „ „ „ 2, Huhn 3 † nach 6 Tagen
„ „ „ (1:10000) 1,0 + 0,1 „ „ „ 3 „ 4 Ueberlebt
„ „ „ (1:1000) 1,0 + 0,1 „ „ „ 1 „ 5 † nach 3 Tagen
Kontrolle: Virus 1:10000 Huhn 6 † nach 2 Tagen.

Daß auch zum Nachweis der passiven Schutzwirkung eines derartigen Serums die quantitativen Verhältnisse des Virus berücksichtigt werden müssen, ist selbstverständlich.

Zusammenfassung.

Das Virus der Hühnerpest pflanzt sich sowohl im Zentralnervensystem empfänglicher Tiere (Hühner, Gänse), als auch in dem unempfänglicher Tiere (Tauben, Kaninchen) fort und vermehrt sich viel leicht daselbst.

Im Gehirn und Rückenmark der Tauben, die an Hühnerpest für gewöhnlich nicht erkranken, läßt sich das Virus noch nach 8—15 Tagen nach erfolgter Infektion experimentell nachweisen. Im Gehirn und Rückenmark der absolut unempfänglichen Kaninchen erfolgt zwar die Fortpflanzung des Virus so wie bei Tauben, aber die Vermehrung des Virus erfährt eine Beeinträchtigung. (Nach 24—48 Stunden läßt sich wohl Virus im Brustmark nachweisen, jedoch erfolgt der Tod der so infizierten Hühner erst nach 6 Tagen.) Nach 4 und 5 Tagen ist das Virus derart verändert (zerstört oder abgeschwächt), daß der experimentelle Nachweis nicht mehr gelingt.

Die Ursache für die Unempfänglichkeit der Tauben und Hühner dem Hühnerpestvirus gegenüber kann demnach nicht darin gesucht werden, daß das ins Gehirn eingebrachte Virus sich nicht fortpflanzen oder vermehren könne, sondern muß anderweitig erklärt werden. Auch die Eigenschaften des Blutserums dieser Tiere dem Virus gegenüber lassen sich mit der natürlichen Immunität nicht in direkte Beziehung bringen. Wohl aber dürfte bei künstlich immunisierten Gänsen der gelungene Nachweis virusschädigender Eigenschaften des Blutserums die Immunität der Tiere zum Teil erklären. Doch muß auch hier sowie auch in früheren Versuchen (l. c.) über Rabizidie des Serums mit Lyssavirus immunisierter Tiere der Mechanimus der Serumwirkung als nicht vollständig aufgeklärt bezeichnet werden, da wir eine opsonisierende Wirkung dieser Sera nicht von der Hand weisen können.

Die hier mitgeteilten Tatsachen über Fortpflanzung des Hühnerpestvirus im Zentralnervensystem empfänglicher, natürlich und künstlich unempfänglicher Tiere sind ganz analog denjenigen, welche Kraus,

Keller und Clairmont mit Lyssavirus unter gleichen Bedingungen bei Tieren ermittelt haben. Die von Kleine, Rosenthal und Schiffmann beschriebenen Körperchen im Gehirn der an Hühnerpest verendeten Tiere, weiter die von Kraus und Schiffmann gemachten Beobachtungen über Abschwächung des Hühnerpestvirus, sowie auch die hier niedergelegten Befunde lassen eine Verwandtschaft des Lyssavirus und Hühnerpestvirus annehmen. Bei der Unmöglichkeit morphologischer und kultureller Bestimmung dürfte das Studium der spezifischen Zelleinschlüsse sowie experimentell gewonnene Erfahrungen Beziehungen der einzelnen Arten des filtrierbaren Virus aufdecken, die sonst nicht erhoben werden könnten.

Literatur.

1) Kleine, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. LI.
2) Rosenthal, Centralbl. f. Bakt. etc. 1906.
3) Kraus und Schiffmann, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XLIII. 1907.
4) Kraus, Keller und Clairmont, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. XLI.
5) Möllers und Kleine, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX.

Ueber ein Agglomerationsphänomen im Blute mit Recurrensspirochäten infizierter Mäuse.

[Aus der hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg. (Vorstand: Prof. Dr. Bonhoff).]

Von Dr. med. **Fischer**, Assistenten der Abteilung.

Mit 1 Tafel.

C. Fraenkel erwähnt in einer vor etwa 1 Jahre erschienenen Arbeit[1]) bezüglich des Verhaltens des Spirillum Obermeieri zu den Blutkörperchen, daß die roten Blutkörperchen sich in mehr oder minder dichten Haufen um einzelne Spirillen scharen und von diesen hin- und hergeworfen werden. Da ich eingehendere Angaben über diese Erscheinung in der mir zur Verfügung stehenden Literatur nicht habe finden können, so halte ich es für zweckmäßig, meine Beobachtungen darüber kurz zu veröffentlichen.

Bereits im vorigen Jahre fiel mir bei der Untersuchung des Blutes von Recurrensmäusen im hängenden Tropfen (Verdünnung mit 0,7-proz. Kochsalzlösung) auf, daß zu einer bestimmten Zeit der Infektion die Blutlösung kein gleichmäßiges Bild darbot, sondern daß hier und da größere und kleinere Häufchen auftraten; aus äußeren Gründen mußte ich damals leider von einem weiteren Studium dieser Erscheinung absehen. Vor kurzem sind mir nun von dem Fraenkelschen Institute wiederum einige mit russischer und ostafrikanischer Recurrens geimpfte Mäuse zur Verfügung gestellt, deren Spirochäten ich auf andere weiße Mäuse übertragen konnte; dabei konnte ich folgende Beobachtung machen.

Gewöhnlich am 3., bisweilen aber auch erst am 4. Tage nach der mit 3 Tropfen Blut erfolgten Infektion ließen sich die mit physiologischer Kochsalzlösung zusammengebrachten Bluttropfen in dieser nicht mehr

---

1) Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 5.

so gleichmäßig verteilen, wie sonst, sondern es zeigte sich schon makroskopisch eine feine Häufchenbildung, erinnernd an das Auftreten der Agglutination bei der Widalschen Probe. Bei der mikroskopischen Beobachtung (schwache Vergrößerung) bot sich mir dann das Bild, welches Abb. 1[1]) zeigt: zahlreiche größere und kleinere Häufchen, welche offenbar aus roten Blutkörperchen bestanden und immer umgeben waren von einer breiten hellen Zone. Die Häufchen lagen nicht ruhig, sondern wurden teils um ihre eigene Achse gedreht, teils wurden sie auch seitlich verrückt; bei diesen Bewegungen wichen die noch frei in der Flüssigkeit liegenden roten Blutkörperchen aus, wobei die helle Zone um die Häufchen herum bestehen blieb. Um das Bild photographisch festhalten zu können, setzte ich einen Tropfen etwa 3 Minuten lang Osmiumsäuredämpfen aus, wodurch ich völlige Ruhe darin erreichte; die helle Zone büßte dabei allerdings etwas an Breite ein. Die starke Vergrößerung (800-fach, Abb. 2) bestätigte mir, daß die Haufen in der Tat aus fest zusammengeballten roten Blutkörperchen bestanden; an der Peripherie der Haufen hafteten zahlreiche Spirochäten, welche sich meist radiär angeordnet hatten und den besonders bei schwacher Vergrößerung gut sichtbaren hellen Hof dadurch verursachten, daß sie alle in der Nähe befindlichen einzeln liegenden roten Blutkörperchen durch ihre Bewegungen fortschleuderten. Die Zahl der Spirochäten in der Nähe der Häufchen ist, wie man sieht, eine sehr beträchtliche, während sie in den übrigen Teilen des Tropfens verhältnismäßig nur gering ist. Ihre Beweglichkeit war meistens sehr lebhaft oder doch nur um ein sehr geringes herabgesetzt. Beim ersten Auftreten der Erscheinung machten die Tiere einen zwar deutlich, aber nicht schwer kranken Eindruck.

Ein völlig verändertes Bild bot sich mir dann nach etwa 12 bis 18 Stunden. Die Tiere waren sichtlich schwer krank, auf Reize reagierten sie nur schlecht. Beobachtete man jetzt das Blut in frischem Zustande im hängenden Tropfen, so war makroskopisch keine Veränderung festzustellen; bei schwacher Vergrößerung konnten auch wohl noch Häufchen wahrgenommen werden, aber ausschließlich kleine, welche auch nicht mehr so lebhaft bewegt wurden. Das hellere Aussehen der Häufchen legte auch die Vermutung nahe, daß sie nur aus wenigen Zellen, vielleicht auch nicht aus roten Blutkörperchen, sondern aus anderen Blutelementen bestanden. Diese Annahme bestätigte auch die Beobachtung des Tropfens bei starker Vergrößerung (Abb. 3). Man sah, daß die Spirochäten, welche an Zahl noch zugenommen hatten, sich nur sehr träge bewegten, daß sie zum großen Teile sich zu dichten Zöpfen zusammengeballt hatten, welche unbeholfen durch das Gesichtsfeld schwammen, und daß die erwähnten Haufen nicht aus roten Blutkörperchen, sondern fast ausschließlich aus Leuko- und Lymphocyten, welche überhaupt eine ganz beträchtliche Vermehrung zeigten, bestanden. In der Nähe dieser Haufen war keine Zopfbildung zu beobachten, auch war hier die Beweglichkeit der Spirochäten eine bessere als in dem übrigen Präparat.

Bemerkenswert war, daß trotz der Schwere der Infektion die mit russischer Recurrens geimpften Mäuse meistens genasen, während die mit afrikanischer Recurrens infizierten fast ausnahmslos eingingen. Als Kontrollpräparate habe ich solche mit Blut von normalen und mit

1) Die Diapositive zu den Abbildungen verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. Bonhoff; sie sind nach dem neuen Lumièreschen Verfahren hergestellt.

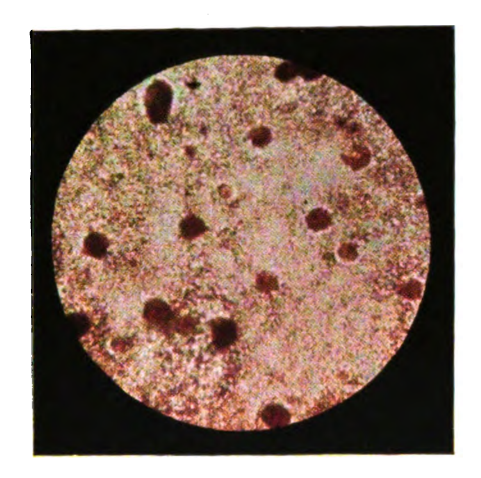


Fig. 1

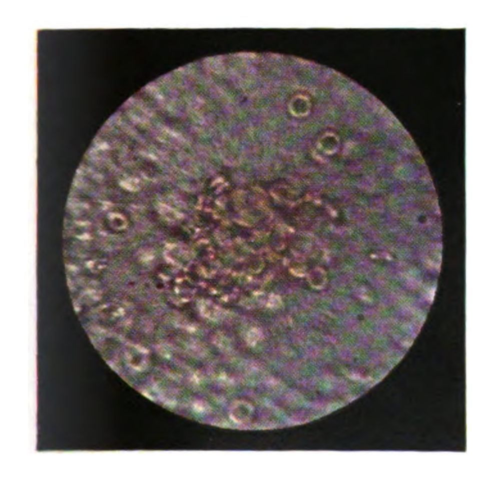


Fig. 2

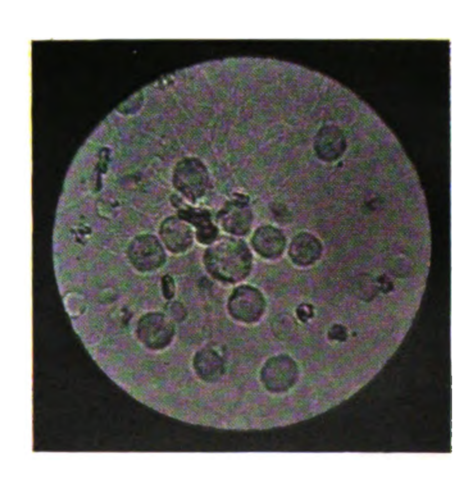


Fig. 3

Fischer phot.

Verlag von *Gustav Fischer* in *Jena*.

Joh. Hambock, Kunstanstalt, München.

Nagana- und Dourine-Trypanosomen infizierten Mäusen angefertigt; die oben beschriebene Erscheinung habe ich dabei niemals beobachtet. Ich muß also das Agglomerationsphänomen als etwas der Recurrensinfektion Spezifisches ansehen.

Eine Erklärung des Vorganges vermag ich vorderhand nicht zu bieten; ob reichlich gebildete Stoffwechselprodukte der Spirochäten oder Antikörper des Organismus das Zusammenballen der roten Blutkörperchen bewirken, steht dahin; jedenfalls bedeutet diese Agglomeration der roten Blutkörperchen eine schwere Schädigung dieser für das Blut wichtigsten Elemente. Eins möchte ich dabei aber gegenüber Fraenkel bemerken, daß nach meinen Beobachtungen im Tropfen der Kochsalzlösung sich nicht wohl die roten Blutkörperchen um die Spirillen, sondern umgekehrt diese um die roten Blutkörperchen scharen. Das so außerordentlich zahlreiche Auftreten der Leuko- und Lymphocyten scheint mit der Fortschaffung der Spirochäten aus dem Blute im Zusammenhang zu stehen, wenn auch bei den mit afrikanischer Recurrens infizierten Tieren keine Heilung, sondern bald nach dem Auftreten der Erscheinung der Tod eintrat. Bilder, welche mit Sicherheit auf eine Phagocytose hindeuten, habe ich dabei niemals gesehen.

Bemerkungen zu den „Beobachtungen über das Eierlegen der Culiciden von Galli-Valerio und Rochaz de Jongh“.

Von Dr. **Adolf Eysell**, Cassel.

Die Verff. schreiben auf p. 133 u. 134 des XLVI. Bandes der I. Abt. des Centralbl. f. Bakt. etc.:

„Bei dieser Gelegenheit konnten wir feststellen, daß die von dieser Art“ (gemeint ist Culex cantans) „gelegten Eier gar nicht mit den gewöhnlichen Eiern der Culicinae übereinstimmen und sich den Stegomyia-Eiern nähern.“

Dieser Satz darf nicht unwidersprochen bleiben, weil andernfalls leicht die Ansicht aufkommen könnte, daß es sich im Falle von Culex cantans — wie dies Galli-Valerio und Rochaz de Jongh glauben — um eine Ausnahme handele, während die Eier dieser Art im Gegenteil nur das gewöhnliche Verhalten der Culicineneier zeigen.

Sie werden — wie Galli-Valerio und Rochaz de Jongh ganz richtig angeben — von der frei auf der Wasserfläche sitzenden Mücke einzeln abgelegt. Sie sind anfangs weiß, dunkeln aber im Laufe einer halben bis mehrerer Stunden nach und nehmen schließlich eine schwarze Farbe an. Sie verteilen sich zunächst in verschieden großen und verschieden geformten Gruppen auf der Wasserfläche.

Die Verff. fahren dann wörtlich fort: „Untersucht man diese $^1/_2$ bis $^3/_4$ mm langen Eier mikroskopisch, so zeigen sie eine leicht spindelförmige Form; eine Seite ist mehr gebogen als die andere. Das Ei scheint von einer hellen, buckeligen Haut umgeben zu sein, die hauptsächlich an den Rändern zu sehen ist, wo sie eine Reihe von Luftkämmerchen zu bilden scheint, die dem Ei das Schwimmen ermöglichen.“

So, wie hier beschrieben, verhalten sich nun mit wenigen Aus-

nahmen alle Culicineneier und deshalb natürlich auch die von Stegomyia fasciata, die doch zum mindesten auch eine Culicine, ja noch mehr, die ein echter Culex ist: der alte Culex fasciatus des Fabricius, was sie am besten auch geblieben wäre; die Gattung Stegomyia hat nämlich die gleiche Existenzberechtigung wie die meisten Genera Theobalds — das heißt gar keine!

Aber nicht nur die Unterfamilie der Culicinen, sondern auch die übrigen Unterfamilien (Aedinen etc.) der Stechmücken, welche sich aus siphontragenden Larven entwickeln, zeigen das gleiche Verhalten.

Sie legen ihre Eier einzeln ab (vergl. Eysell, Beiträge zur Biologie der Stechmücken [Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. XI. p. 197 u. 198]), und diese Eier besitzen fast ausnahmslos Spindelform. Die dunkelgefärbte harte Eihaut, das Chorion, „wird überzogen von einem wasserhellen, stark lichtbrechenden Exochorion, dem zahlreiche dichtgedrängte Perlen aufsitzen. Diese schließen beim Eintauchen in das Wasser Luft zwischen sich ein und bewirken so das Schwimmen der Eier". So beschrieb ich im Jahre 1902 (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VI. p. 342) die feineren Oberflächenverhältnisse des Aedes-Eies. Im Jahre 1905 stellte dann Prof. E. A. Goeldi in seinem großen Werke „Os Mosquitos no Pará" das gleiche Verhalten bei zahlreichen Culicinenarten und bei Megarhinus fest.

Ich will heute meinen eben zitierten Worten über das Aedes-Ei noch hinzufügen, daß ich bei allen Eiern der zahlreichen Culex-Arten, die ich im Laufe der Jahre untersuchen konnte, die gleichen Verhältnisse antraf — nur Culex pipiens und Culex annulatus machen eine (scheinbare) Ausnahme.

Nicht „Luftkämmerchen", wie Galli-Valerio und Rochaz de Jongh annehmen, trennen das Chorion vom Exochorion bei den Stechmücken, welche sich aus siphontragenden Larven entwickeln, sondern eine wasserhelle schleimige Masse verbindet lückenlos die beiden Häute. Ganz anders verhält sich die Sache bei den Anopheliden. Hier sind zwar auch an vielen Stellen der Eioberfläche die beiden Membranen in der eben geschilderten Weise miteinander verbunden; dort aber, wo sich bei ihnen die Schwimmvorrichtung (der sogenannte „hydrostatische Apparat") befindet, ist das Exochorion stärker abgehoben, und an die Stelle der schleimigen Kittschicht ist hier Luft getreten. Dieses bei den Anopheliden konstant vorkommende Verhalten des Chorions zum Exochorion unterscheidet sie gerade neben vielen anderen wichtigen Merkmalen von der Familie der Culiciden sens. strict. in auffallender Weise (vergl. Menses Tropenkrankheiten. Bd. II. p. 62—64).

Das stark zur Fältelung und Vorbuckelung neigende und dann granuliert, warzig oder perlig erscheinende Exochorion verleiht dem Stechmückenei den bekannten, schon makroskopisch wahrzunehmenden perlgrauen Schimmer. Es läßt sich leicht vom Chorion, das dann tiefschwarz heraustritt, abheben. Untersucht man nun das isolierte Exochorion mikroskopisch, so sieht man sofort, daß dasselbe nicht aus bloßen kugelmützenförmigen Schalen, sondern aus plankonvexen Linsen, die aus Schleimschicht + Exochorion bestehen, zusammengesetzt ist. Das Vorhandensein dieser Schleimschicht läßt sich durch Verschieben des abgelösten Exochorion auf dem Objektträger leicht demonstrieren: es lösen sich in diesem Falle kleine Mengen der Kittschicht ab und werden als streifige Spur auf dem Glase sichtbar.

Die Eier der meisten Culiciden sens. strict. sollen nun über-

haupt nicht längere Zeit an der Wasseroberfläche herumtreiben; viele von ihnen versinken schon sehr bald bei bewegter Luft, unbeschadet ihrer Existenz, die meisten aber treiben so lange, bis sie das Ufer, einen Pflanzenstengel oder irgend einen schwimmenden Gegenstand erreicht haben und stützen sich dann auf die so gewonnene feste Unterlage. Zu diesem Zwecke genügen schon recht primitive Vorrichtungen, wie sie eben in den lufteinschließenden Zwischenräumen der Exochorionperlen gegeben sind. Selbst aber ohne diese der äußeren Eifläche anhaftenden Luftbläschen würde das Culicidenei längere Zeit allein durch die Oberflächenspannung des Wassers sich schwimmend erhalten können; ich erinnere hier nur an den bekannten Versuch, der diese Möglichkeit aufs schlagendste dartut: eine mittels eines Zängelchens vorsichtig auf die Wasserfläche gelegte starke Nähnadel schwimmt munter auf dieser herum, und es gehört schon viel Ungeschicklichkeit dazu, sie durch Anblasen oder Anstoßen zum Sinken zu bringen.

Ueber eine neue Art der Gattung Archigetes.

Vorläufige Mitteilung.

Von Professor Dr. Al. **Mrázek**, Prag.

Mit 5 Figuren.

Die im Jahre 1868 von Ratzel unter den Namen Caryophyllaeus appendiculatus zuerst beschriebene Form blieb lange der einzige Repräsentant der in mancher Beziehung sehr interessanten und wichtigen Cestodengattung Archigetes. Ich selbst fand früher ebenfalls nur dieselbe Form, die seinerzeit Ratzel, Leuckart, Gruber vorgelegen hat. Erst viel später, nach dem Erscheinen meiner Archigetes-Arbeit, ist es mir gelungen, eine zweite neue Art des merkwürdigen Genus aufzufinden. Dieselbe wurde von mir sowohl in lebendem Zustande als auch in Präparaten bereits auf der Jahresversammlung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft in Gießen zu Pfingsten 1902 einer Anzahl von Fachgenossen demonstriert, aber ich kam leider später immer nicht dazu, die Resultate der Untersuchung dieser neuen Form zu publizieren. Dies wird erst jetzt in dem zweiten Teil meiner Cestodenstudien geschehen. Da aber bis zum Erscheinen derselben noch eine geraume Zeit verfließen wird, so halte ich es für angebracht, an dieser Stelle wenigstens eine kurze Charakteristik der neuen Form, die ich als Archigetes brachyurus n. sp. bezeichnen will, zu geben.

Archigetes brachyurus lebt in Limnodrilus hoffmeisteri, welche Tubificidenart auch für seinen nächsten Verwandten (Arch. appendiculatus) als der normale Wirt gelten kann. Bisher habe ich diese Art zwar auf mehreren Lokalitäten der Prager Umgebung gefunden, aber immer in viel kleinerer Individuenzahl als Arch. appendiculatus, welcher stellenweise massenhaft vorkommt.

Der Parasit findet sich in der Genitalgegend des infizierten Wurmes und zwar, soweit meine bisherigen Erfahrungen reichen, stets nur in Einzahl. Vielleicht könnte dies mit der Größe des Parasiten zusammenhängen, da der viel kleinere Arch. appendiculatus oft in 2—3 Exemplaren in demselben Wirtstier anzutreffen ist.



Fig. 1a.

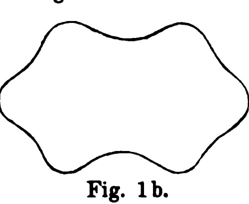


Fig. 1b.

Fig. 1a. Archigetes brachyurus n. sp. Habitusbild nach einem konservierten Exemplar.
1b. Querschnitt durch die Sauggrubengegend.

Die neue Archigetes-Art unterscheidet sich von ihrem älteren Namensgenossen sofort schon durch ihre viel bedeutendere Größe, indem sie ungefähr zweimal so groß ist und ihre Länge auch im kontrahierten Zustande (am konservierten Tiere gemessen) 5—6 mm beträgt. Diese Größenverhältnisse erhellen gut aus einem Vergleich der Figuren 2 und 3, die beide bei derselben Vergrößerung gezeichnet sind.

Arch. brachyurus ist sehr schank, seine Breite wächst nicht im Verhältnis zu seiner Länge, ja bleibt nicht nur relativ, sondern sogar absolut hinter der Breite einiger der größten Exemplare von Arch. appendiculatus zurück, namentlich solcher, bei welchen der Uterus durch Druck der in ihm verbleibenden reifen Eier enorm distendiert erscheint.

Ein anderes Unterscheidungsmerkmal betrifft das Vorderende. Zwar ist diese Partie prinzipiell ganz ähnlich gebaut wie bei Arch. appendiculatus, nur daß die flächenständigen Sauggruben größer sind und das Vorderende im Querschnitt deutlich sechskantig erscheint (Fig. 1b), aber ihre Begrenzung gegen den übrigen Körper ist eine etwas andere. Bei Arch. appendiculatus ist das Vorderende niemals scharf begrenzt (Fig. 2), so daß es den Anschein erweckt, als ob dasselbe in die ihm folgende Körperpartie zurückziehbar wäre (vergl. die Schilderung Leuckarts). Bei Arch. brachyurus dagegen ist das Kopfende ziemlich scharf gegen den übrigen Körper abgesetzt, und zwar ringsherum, sowohl lateral (Fig. 1a) als auch dorsal und ventral (Fig. 3, 5).

Daß ein Schwanzanhang vorhanden ist, braucht ja nicht besonders hervorgehoben zu werden, gehört ja derselbe zu den auffallendsten Charakteren des Archigetes. Nur ist dieser Körperteil bei der neuen Form sehr kurz, erreicht niemals die Dimensionen wie bei Arch. appendiculatus (vergl. Fig. 2 und 3), und ich habe auch diesem Verhalten den spezifischen Namen brachyurus entlehnt.

Was die innere Organisation betrifft, so beweist insbesondere der Bau der Geschlechtsorgane, daß wir es wirklich mit einer zweiten Art von Archigetes zu tun haben. Die Geschlechtorgane stimmen vollkommen mit denjenigen von Arch. appendiculatus, deren Darstellung sich in meiner oben erwähnten Arbeit findet, überein. Die Unterschiede sind ganz unbedeutender Natur und betreffen nur Dimensionen, Lagerung und Zahl einiger Komponenten (hauptsächlich der Hodenbläschen) und lassen sich überdies zum Teil noch als notwendige Folge der allgemeinen schlanken Körpergestalt begreifen.

Die relativ großen Hoden sind nur in zwei Doppelreihen (einer ventralen und einer dorsalen) angeordnet, so daß auf Querschnitten gewöhnlich

vier Hoden durchschnitten erscheinen. Die Zahl der Hodenbläschen in einer der vier Reihen variiert meistens zwischen 30—40 (Fig. 3). Die Hoden reichen weit nach vorn, bis beinahe in die Halsregion.

Das oben Angeführte zusammen mit den beigegebenen Abbildungen genügt vollkommen zu einer spezifischen Charakterisierung der neuen Archigetes-Art. Ich will jedoch dazu noch einige weitere Mitteilungen beifügen.

Fig. 2. Archigetes appendiculatus (Ratz). Medianer Längsschnitt. Die aus der Geschlechtsöffnung hervortretenden Eier heben die ältere Cuticularschicht bruchsackartig ab.

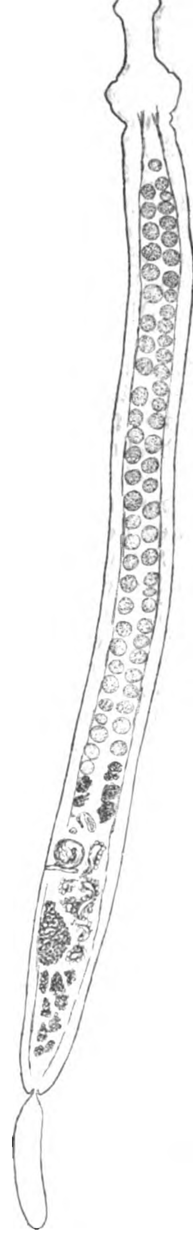
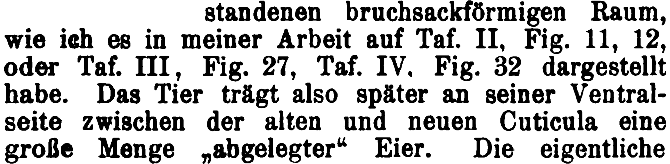
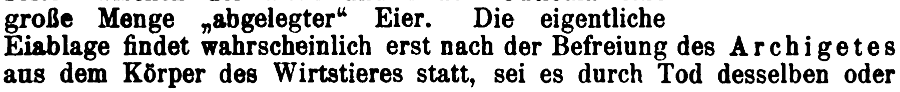


Fig. 3. Archigetes brachyurus n. sp. Medianer Längsschnitt.

Leuckart fand, daß bei reifem Arch. appendiculatus der Uterus durch die in demselben sich ansammelnden Eiermassen stark aufgetrieben wird. Dasselbe konnte auch ich konstatieren, aber nur für einen Teil der Individuen. Bei vielen Individuen erscheint jedoch der Uterus auch zur Zeit der reichlichsten Eiproduktion nur wenig geändert. Dies läßt sich durch die von mir beobachtete und seinerzeit geschilderte eigentümliche „Eiablage" (falls diese Bezeichnung angewendet werden kann) erklären. Die äußere Oeffnung des Genitalatriums bleibt auch bei ältesten Tieren von der Cuticula überspannt. Die Cuticula zeigt überall am Körper eine deutliche Schichtung, man kann wohl die äußerste Schicht als die älteste und die unteren als die jüngeren, quasi als eine neugebildete Ersatzschicht bezeichnen. Der Zusammenhang beider Schichten ist oft ein ziemlich loser, so daß sich die äußere Cuticula, wenn man das Tier im Wasser untersucht, sehr bald in Form zahlreicher Bläschen von der tieferen Partie abhebt. Und dies ermöglicht das eigentümliche Verhalten, das ich jetzt erwähnen will. Die reifen Eier gelangen aus dem Uterus bis zu der einzigen gemeinsamen äußeren Geschlechtsöffnung, heben die äußere Cuticula ab und füllen den so entstandenen bruchsackförmigen Raum,



wie ich es in meiner Arbeit auf Taf. II, Fig. 11, 12, oder Taf. III, Fig. 27, Taf. IV, Fig. 32 dargestellt habe. Das Tier trägt also später an seiner Ventralseite zwischen der alten und neuen Cuticula eine große Menge „abgelegter" Eier. Die eigentliche



Eiablage findet wahrscheinlich erst nach der Befreiung des Archigetes aus dem Körper des Wirtstieres statt, sei es durch Tod desselben oder

bloße Dehiszenz seiner Wand infolge des auf dieselbe ausgeübten Druckes seitens des herangewachsenen Parasiten.

Bei Arch. brachyurus fand ich bisher niemals den Uterus stark aufgetrieben, aber anscheinend auch nicht das soeben bei Arch. appendiculatus erwähnte Verhalten. Da, wo die Parasiten vollkommen geschlechtsreif und im Uterus reife fertige Eier enthielten, waren stets auch zahlreiche Eier draußen, scheinbar frei in der Leibeshöhle des Wirtes, resp. in den Samensäckchen desselben zu finden. Auf Grund des Studiums von Schnittpräparaten kam ich jedoch schließlich zu der Ueberzeugung, daß hier die Sache ähnlich verläuft, wie bei Arch. appendiculatus. Nur wird hier die äußere Cuticula sehr leicht und schnell in toto abgestreift.

Die Eierschalen sind, wie bei den Bothriocephaliden üblich, gedeckelt.

In dem kleinen Schwanzanhang des Arch. brachyurus fand ich oft, geradezu regelmäßig, zerstreute Dotterstockklumpen, während ich etwas ähnliches bei Arch. appendiculatus äußerst selten und erst in der jüngsten Zeit, wo ich große Mengen derselben untersuchen konnte, beobachtet habe. Diese Erscheinung ist an sich selbst nicht befremdend. Der Schwanzanhang ist ja nur ein wenig modifizierter Teil des Embryonalkörpers und bei der für Archigetes charakteristischen Lagerung eines Teiles des Dotterstockapparates bis dicht am Hinterende, nahe der Basis des Schwanzanhanges, ist es leicht begreiflich, daß bei der Abschnürung des Schwanzanhanges in denselben auch Anlagen der Dotterstocksfollikel hinein gelangen können. Die im Schwanzanhang vorhandenen Dotterstocklappen zeigten ein normales Aussehen, bildeten wirkliche normale Dotterelemente, doch konnte ich trotz des eifrigsten Suchens niemals besondere Dottergänge und einen Zusammenhang mit den Dotterstöcken des Körpers finden. Falls dieser negative Befund wirklich dem tatsächlichen Bestand entspricht, so ist dies in gewisser Beziehung sehr interessant. Es würde sich um unabhängige Entwickelung an einem präformierten Materiale außerhalb des morphologischen Zusammenhanges handeln.

Noch in einem Punkt, den ich zuletzt erwähnen will, unterscheidet sich Arch. brachyurus von Arch. appendiculatus, nämlich durch das Vorkommen eines mächtigen Drüsenkomplexes in der Kopfgegend, welcher bei dem letztgenannten kaum angedeutet erscheint.

Die Frontaldrüsen von Arch. brachyurus, wie ich dieselben im Anschluß an eine neuere Arbeit Pintners bezeichnen will, bilden in der Sauggrubengegend ventral und dorsal je einen paarigen Komplex (Fig. 4). Die langen Ausführungsgänge der einzelnen Drüsenzellen münden in der Medianlinie, aber auf dem ganzen Scheitelfeld zerstreut, so daß Längsschnitte durch diese Gegend in zwei aufeinander senkrechten Ebenen ganz verschiedenartige Bilder zeigen (vergl. Fig. 4 u. 5). Diese Drüsen heben sich überaus scharf von den übrigen Geweben ab und ihr Vorkommen bei unserer Form ist aus einem besonderen Grunde bemerkenswert. Nach Pintner wären vielleicht die „Faserzellenstränge“ von Caryophyllaeus den Frontaldrüsen gleichzustellen. Ich habe aber seinerzeit (1901) die Ansicht ausgesprochen, daß ein gewisser Zellenkomplex in der Halsgegend von Arch. appendiculatus den erwähnten Gebilden entsprechen könnte. Dieselben eigentümlichen Zellen und Zellenaggregate kehren jedoch in der Halsregion von Arch. brachyurus wieder, und eine Homologisierung derselben mit den Faserzellen Wills erscheint mir immer noch sehr plausibel. Bei unserer

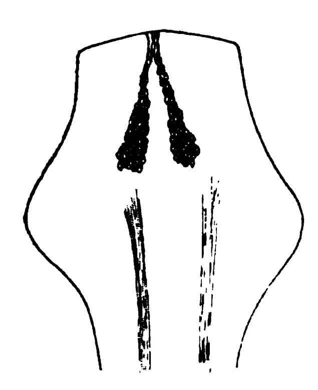


Fig. 4.

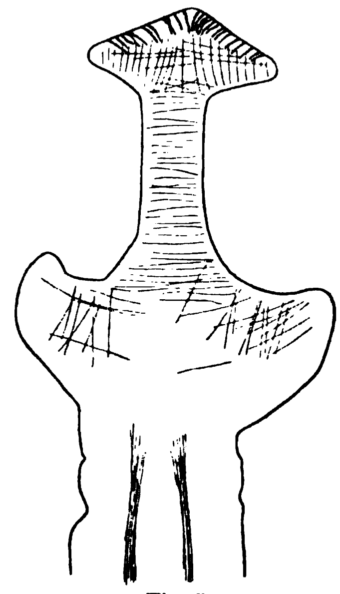


Fig. 5.

Fig. 4. Die Frontaldrüsen von Arch. brachyurus. (Flächenschnitt.)

Fig. 5. Die Ausführungsgänge der Frontaldrüsen am Scheitelfeld. (Medianer Längsschnitt. Außer den Drüsengängen sind noch die Muskelfaserzüge dargestellt.)

Form kommen diese Gebilde neben wirklichen Frontaldrüsen vor! Doch damit habe ich schon eine Frage gestreift, deren Erörterung der ausführlichen Arbeit vorbehalten sein muß.

Prag, 29. Februar 1908.

Nachdruck verboten.

Kritische Bemerkungen zu der Veröffentlichung von Dr. E. Tedeschi auf p. 303 in Heft 4. Bd. XLIV d. Centralbl.: „Weiteres über die sogenannten nichtbakteriellen Aggressine“.

Von Privatdozent Dr. **Wolfgang Weichardt**, Erlangen.

Immer und immer wieder taucht das Märchen von einer Immunisierung gegen Morphin in der medizinischen Literatur auf, obgleich doch die von Ehrlich begründete Anschauung, daß sich gegen chemisch gut definierbare Substanzen Antitoxine nicht bilden, durchaus sichergestellt ist. So hat bekanntlich Morgenroth festgestellt, daß eine passive Immunisierung gegen Morphium, wie sie Hirschlaff bewiesen zu haben glaubte, nicht zu Recht besteht[1]).

Ich selbst habe in Bd. XLIV. Heft 1 dieses Centralbl. p. 72 dartun müssen[2]), daß das Morphiumantitoxin v. Marikovskys kein spezifisches sein kann.

---

1) Morgenroth, J., Berl. klin. Wochenschr. 1905. p. 471.
2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 1. p. 72.

Es ist keinesfalls richtig, von einer Immunisierung gegen Morphium zu sprechen, ein Ausdruck, der sich auch in dem Artikel von Dr. E. Tedeschi auf p. 368. Bd. XLVI findet. Als ich beim flüchtigen Durchblättern der Arbeit T.s auf diesen Ausdruck stieß, glaubte ich zunächst, es liege hier ein Uebersetzungsfehler des italienischen Originales vor, und es müsse an Stelle von „gegen Morphin immunisierten“ „an Morphin gewöhnte“ Kaninchen heißen. Doch stieß ich bei genauerem Lesen der Arbeit, namentlich der Tabellen, auch noch auf so manches andere, was m. E. selbst der mildesten Kritik nicht standhält.

T. hat mittels Aleuronatinjektionen, nach denen er Nikotin in die Pleurahöhle von Kaninchen injizierte, ein nach seiner Meinung aggressives Exsudat gewonnen. Er gründet dieses sein Urteil auf eine recht bescheidene Anzahl mitgeteilter Versuche, deren Resultate noch dazu schwankende sind.

Als ein großer Mangel dieser Versuche, ein Mangel, der allerdings leider in der heutigen Literatur recht oft wiederkehrt, zeigt sich die Neigung des Herrn Autors, die Dosis letalis certe efficiens so niedrig zu bemessen, daß von vornherein gar nicht die Möglichkeit besteht, über positive und negative Erfolge ein exaktes Urteil gewinnen zu können. Besonders aber scheint mir das Verfahren, die Verschiebung des Todeseintrittes um 10—20 Stunden, noch dazu bei so wenig Versuchen, für erheblich zu halten, als durchaus abwegig, und hierauf gegründete Schlußfolgerungen entbehren der Beweiskraft.

Hier und da kommt übrigens dem Autor selbst das Gefühl seiner unsicheren experimentellen Grundlagen zum Bewußtsein. So bekennt er z. B. auf p. 367: „Ich möchte bei Behauptung irgendwelcher Tatsachen vorsichtig sein“. Dieser Satz würde einen sehr richtigen Schluß der ganzen Arbeit bilden. An Stelle hiervon kommt aber T. zu ganz ungeheuerlichen Schlußfolgerungen, die in bemerkenswertem Kontraste stehen zu dem winzigen experimentellen Materiale mit noch dazu durchaus nicht einheitlichen Resultaten.

Das ängstliche Betonen der Priorität des Autors und das Hervorheben der weiten Ausblicke auf die gesamte Pathologie wirkt, sit venia verbo, geradezu komisch.

Vergeblich suchen wir in der ganzen Arbeit nach einer exakten klaren, größeren Versuchsreihe, aus der die Spezifität der supponierten Aggressine mit vollkommener Sicherheit erhellte.

Dagegen versichert der Autor, er habe eine aktive Immunität gegen das Nikotin erzielt. Worauf aber gründet er diese kühne Behauptung? Weil es ihm „manchmal“ gelungen ist, seine Versuchskaninchen gegen die kleinste tödliche Dosis des Alkaloids zu schützen. Ganze vier Versuche, von denen nur zwei in diesem Sinne ausgefallen sind, werden dem erstaunten Leser als experimentelle Grundlage mitgeteilt. Natürlich hält der Autor nur die beiden in seinem Sinne ausgefallenen Versuche für beweisend!

Was die Kenntnis von T. auf dem Gebiete der einschlägigen Literatur anlangt, so hätte ich ihm wünschen mögen, daß er mindestens die in diesem Centralblatt erschienenen Arbeiten eingesehen hätte. Es würde ihm dann nicht entgangen sein, daß ohne Kenntnis der Eiweißabspaltungsantigene, d. h. der wohlcharakterisierten Substanzen, welche entstehen, wenn Eiweiß unterhalb 40° chemisch erschüttert wird, ein Arbeiten über vermeintliche Immunität oder Ueberempfindlichkeit gegen chemisch definierbare Stoffe unbedingt zu Scheinresultaten führen muß.

Weil für T. das Gebiet der Eiweißabspaltungsantigene eine vollkommene terra incognita ist, so hat er diese Substanzen, die er, ohne es zu ahnen, zweifellos vor sich hatte, für Aggressine halten zu müssen geglaubt.

T. hat unzweifelhaft bei seinen verschiedenen Versuchen recht verschiedene Quantitäten Eiweißabspaltungsantigens unter den Händen gehabt.

Nun wirken erfahrungsgemäß die Eiweißabspaltungsantigene durchaus nicht gleichsinnig, wenn sie nicht gleich dosiert sind. Kleine Quantitäten derselben aktivieren, größere schädigen, vor allem den Leukocytenapparat. T. war aber nicht imstande, ein Urteil darüber zu gewinnen, wie groß das jeweilige Quantum von Eiweißabspaltungsantigen sein mochte, das sich in den einzelnen Exsudaten gebildet hatte; dazu sind ja ganz besonders ausgebildete Maßmethoden nötig[1]).

Seine Fehlresultate, die ihm selbst so viel Skrupel bereiten, wird übrigens ein jeder, der mit Eiweißabspaltungsantigenstudien vertraut ist, leicht zu erklären imstande sein.

Berlin, im März 1907.

Bemerkungen zum Aufsatz des Herrn Hendrik E. Reeser, „Das Tuberkulin“[2]).

[Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Von Stabsarzt Dr. **W. Berghaus,** Mitglied des Instituts.

In seinen Ausführungen über die Wertbemessung des Tuberkulins unterzieht Reeser die von Dönitz angegebene Methode einer abfälligen Kritik, indem er von ihr sagt, daß sie „in vielen Fällen kein ausreichendes und oft unzuverlässiges Resultat“ gebe. Reeser stützt sich hierbei auf zwei Versuche, in denen er folgendermaßen verfuhr: Im 1. Versuch wurden 10 Meerschweinchen je mit $^1/_2$ mg einer 10 Tage alten TB-Kultur geimpft; 3 Wochen nach der Impfung nun wurde, mit Ausnahme zweier Kontrolltiere, sämtlichen übrigen Tieren an ein und demselben Tage und ohne Rücksicht darauf, ob in der Zwischenzeit eine Gewichtszu- oder -abnahme stattgefunden hatte — die Mehrzahl der Tiere hatte zugenommen — die gleiche Dosis Tuberkulin ($^1/_2$ mg) injiziert. In dem ebenso angelegten 2. Versuch erhielten 3 Wochen nach der Infektion von den 6 Tieren drei 0,2 ccm, die übrigen drei 0,25 ccm Tuberkulin. Das Resultat war in dem 1. Versuch, daß ein Teil der Tiere trotz der hohen Dosis leben blieb; von den Tieren der 2. Versuchsserie starben diejenigen, welchen die höhere Dosis verabfolgt war.

Von dieser Versuchsanordnung unterscheidet sich die Methode

---

1) Weichardt, W., Serologische Studien aus dem Gebiete der experimentellen Therapie. Stuttgart (Ferd. Enke) 1906. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 4. p. 312. — Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 39.

2) Diese Zeitschr. Bd. XLVI. Heft 2.

Dönitz ganz wesentlich. Dönitz sagt[1]): „Demgegenüber" — gemeint ist ein Aufsatz von v. Lingelsheim — „möchte ich noch einmal hervorheben, daß diese Unsicherheit in der Giftprüfung sich sehr wohl vermeiden läßt und von mir in der Tat dadurch vermieden worden ist, daß ich zwei Momente besonders beachtete, von denen das erste eigentlich selbstverständlich ist. Erstens nämlich habe ich mit Rücksicht auf die bekannte ungleiche Empfindlichkeit der einzelnen Meerschweinchen gegen lebende Tuberkulose nur solche Tiere zur Prüfung des Tuberkulins herangezogen, welche durch stetige Gewichtsabnahme zeigten, daß sie über die besonders ungleichmäßig verlaufenden Anfangsstadien der Krankheit hinaus waren. Hatte ich also beispielsweise, wie gewöhnlich, 20 Meerschweinchen intraperitoneal infiziert, so trat bei einzelnen schon am Ende der zweiten Woche eine fortschreitende Gewichtsabnahme ein, während bei anderen ein Stillstand oder gar noch eine Zunahme im Gewicht bestand. Wollte man diese ganze Reihe an einem beliebigen Tage zusammen in Versuch nehmen, so würde man natürlich ganz verkehrte und widersprechende Resultate bekommen; man würde die Erfahrung machen, daß Tiere am Leben bleiben, welche das Doppelte derjenigen Dosis bekommen haben, die andere Tiere tötet."

Reeser verfällt also bei seinen Versuchen gerade in den Fehler, den Dönitz vermieden wissen will, indem er von der Voraussetzung ausgeht, daß 3 Wochen nach der Infektion bei sämtlichen Tieren derselben Versuchsserie die gleiche Empfindlichkeit gegenüber dem Tuberkulin vorhanden sein müsse; den Grad der Tuberkulose, der, wie das Verhalten des Körpergewichts deutlich zeigte, bei seinen Tieren sehr verschieden war, läßt er völlig unberücksichtigt. Die Resultate Reesers können daher nach den Ausführungen Dönitz' nicht überraschen.

Der weiteren Schwierigkeit, die darin besteht, daß in verschiedenen Versuchsserien ein und dasselbe Tuberkulin verschiedene Werte aufweist, begegnete Dönitz durch die Einführung eines Standardtuberkulins — das zweite Moment, das er besonders hervorhebt. Dieses Tuberkulin mit bestimmtem Wert diente ihm als „Prüfstein für die Empfindlichkeit der gerade in Angriff genommenen Reihe tuberkulöser Meerschweinchen" und bildete, gleichzeitig zur Kontrolle mit einem neu zu prüfenden Tuberkulin angewandt, für letzteres den Maßstab, an dem seine Giftigkeit abgemessen werden konnte. Hierdurch machte er sich völlig unabhängig von den Schwankungen, die naturgemäß je nach Dauer der Infektion und Virulenz der Kultur, sowie Rasse und Provenienz der Tiere in verschiedenen Versuchsserien auftreten müssen.

Auf dieser Methode beruht die amtliche Prüfung des Tuberkulins, und sie hat, wie langjährige Erfahrungen gezeigt haben, stets zu außerordentlich zuverlässigen Resultaten geführt; über einen Teil derselben wurde bereits von Otto[2]) an der Hand der amtlichen Protokolle berichtet. Diese Arbeit scheint aber Reeser ebensowenig bekannt zu sein, wie die Monographie Ottos[3]): „Die staatliche Prüfung der Heil-

1) Dönitz, Untersuchungen über die Wertbestimmung des gewöhnlichen Tuberkulins. Nachträgliche Bemerkungen. (Klin. Jahrb. Bd. VII. 1898.)

2) Otto, Prüfungstechnische Erfahrungen bei der Wertbestimmung des Tuberkulins. (Klin. Jahrb. Bd. XIII. 1904.)

3) Otto, Die staatliche Prüfung der Heilsera. (Arb. a. d. Kgl. Inst. f. experim. Therapie zu Frankfurt a. M. Heft 2.) Jena (G. Fischer) 1906.

sera", in der auch der Prüfung des Tuberkulins eine längere Abhandlung gewidmet ist und speziell die Methodik eingehend erörtert wird.

Wenn daher Reeser sagt: daß „nur da, wo man eine hinreichende Zahl von tuberkulösen Rindern zur Verfügung hat", eine zuverlässige Prüfung des Tuberkulins möglich ist, so beruht diese Behauptung auf einer von Anfang an als fehlerhaft erkannten Versuchsanordnung.

Eine einfache Art der Sporenfärbung.

Von Dr. R. Wirtz,
Assistenzarzt der städt. Augenheilanstalt zu Mülheim a. d. Ruhr.
(Chefarzt Dr. Stuelp.)

Bei der bakteriologischen Untersuchung einer eitrigen Augapfelwunde gelang mir der Nachweis der tetanischen Verunreinigung derselben vor dem Ausbruch klinischer Symptome durch Kultur und Tierexperiment. Gelegentlich der Bearbeitung des Falles, den ich seines praktischen Interesses halber an anderer Stelle beschreiben will, fand ich eine Methode der Sporenfärbung, die mir wegen ihrer Einfachheit, Schnelligkeit und der schönen Bilder, die sie liefert, der Beschreibung wert erscheint.

Von den mancherlei angegebenen Methoden werden meist die von Möller, Thesing und Klein angewendet. Möller und Thesing machen durch eine Art Beizung die Sporen für den Farbstoff aufnahmefähiger; Klein verzichtet auf diese Vorbehandlung, er bringt das zu färbende Material gleich in die Farblösung, um die Sporen allseitig umspülen zu lassen.

Diese Methoden und die zahlreichen anderen (die von Fiocca, Foth, Bunge, Aujeszky) sind ziemlich kompliziert, zeitraubend und liefern durchaus nicht regelmäßig gute Bilder. Je nach der Sporenart ist bei den Beizungsmethoden die Konzentration und die Einwirkungszeit der Beizen erst auszuprobieren, ehe man zu guten Resultaten kommt.

Unsere Art beruht auf der Beobachtung, daß die Sporen Malachitgrün relativ schnell aufnehmen und relativ schwer wieder abgeben, dagegen dem Karbolfuchsin gegenüber eine geringe Aufnahmefähigkeit zeigen, daß dagegen die vegetativen Formen sich schon bei kürzester Einwirkung desselben intensiv rot tingieren.

Die Färbung geschieht folgendermaßen:

1) Das mit Material beschickte Gläschen wird 10—20 Sekunden in der Hammschen Röhre in Osmiumsäuredämpfen fixiert;
2) mit 5-proz. Malachitgrünlösung überschichtet, erhitzt bis Dämpfe aufsteigen, nach 1 Minute noch einmal kurz erhitzt und nach einer weiteren halben Minute
3) mit 5-fach verdünnter Karbolfuchsinlösung abgespült und sofort, ohne das Fuchsin länger einwirken zu lassen,
4) in fließendem Wasser gründlich gereinigt[1]).

Auf diese Weise erhielt ich beim Tetanusbacillus und verschiedenen Futterbacillen völlig niederschlagsfreie, schöne Bilder; die Stäbchen waren

1) Nach 2) kann auch kurz mit Wasser abgespült werden.



tief rot, die Sporen leuchtend blaugrün gefärbt. Die Methode ist auch bei frischen Eiterausstrichen, die vorher nach Gram gefärbt werden können, anwendbar. Sie erleichtert das Auffinden von Sporen und mit endständigen Sporen versehenen, tetanusverdächtigen Bacillen.

Jede Vereinfachung der bakteriologischen Untersuchungsmethoden wird mithelfen, ihnen den Weg in die Praxis zu bahnen.

Zum Schlusse sei noch die Beobachtung mitgeteilt, daß sich die verschiedenen Sporenarten den einzelnen Anilinfarbstoffen gegenüber sehr verschieden verhielten. Es lassen sich vielleicht elektive Sporenfärbungen ausarbeiten, die bei der Bestimmung sporenbildender Bakterien, insbesondere des meist mit anderen morphologisch ähnlichen vermengten Tetanusbacillus, differentialdiagnostische Dienste leisten können.

Some simple laboratory devices.

[From the Medical research laboratories of Parke, Davis & Co.]

By Dr. **E. C. L. Miller**, Detroit (Mich.)

With 8 figures.

Platinum wire holder.

Platinum wires are usually stood in conical glasses or tumblers, from which they radiate in all directions.

A plain board, sawed in a half circle, as show in fig. 1, and provided with holes bored from the periphery towards a point somewhat below the center, forms a convenient holder for platinum wires, forceps, files, pencils, etc. The board canbe secured to the work-table near the back and, as the objects stand in the plane of the board, they take up but little room. In the cut the pencils are supported on two wire coat hooks screwed into the board. This little device contributes much to the tidy appearance of a work-table.

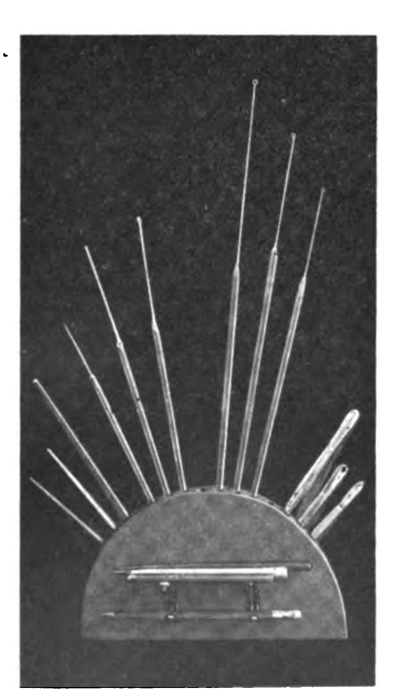


Fig. 1.

Modified fermentation tubes.

The ordinary form of fermentation tube is notoriously unstable, owing to its height and narrow base. In fig. 2 is shown a modification which largely removes the trouble. It consists simply in omitting the usual standards and fastening the tubes together, back to back, in groups of three or more by means of rubber bands. The height is reduced and the base increased so that they are as stable as a beaker.



Fig. 2.

Flame protector.

Every one has experienced the annoying and time consuming antics of a Bunsen flame in summer. In fig. 3 is shown a simple sheet-iron guard which quite effectively protects the flame from currents of air. Incidentally, it also on a bright day furnishes a dark background, against which the blue flame shows plainly. A steady, visible flame is quite a comfort.

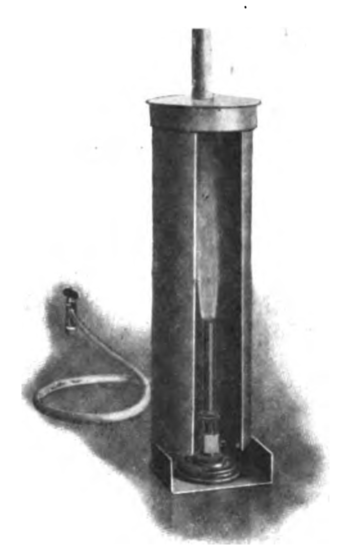


Fig. 3.

Protecting sterile glassware.

For some years it has been the custom in our laboratory that, when a flask is plugged it is also capped. The cap consists, first, of a good layer of cotton covering the mouth and coming well down onto the sides of the neck; over this comes a covering of parchment paper well tied down. The flask is then sterilized, and it can be opened months later with the full assurance that the top of the cotton plug and the mouth of the flask are entirely sterile. The same applies to bottles, beakers, tumblers, etc. In like manner Petri dishes are securely wrapped, first in cotton then in parchment paper, either singly or in bunches of 2, 3 or 4, before being sterilized, so that they will remain sterile indefinitely. It is very convenient to have a good supply of sterile glassware always on hand.

A rotating device for opsonizing pipettes.

When opsonizing pipettes are placed in the incubator the blood corpuscles settle rapidly to the bottom, while the bacteria remain in suspension. Under these circumstances, it would seem that the leucocytes did not have a fair chance to show what they could do in the way of picking up the bacteria. Hence the simple rotating device shown in fig. 4 was set up and has been in use for sometime. It consists of a small water motor connected to some pulleys which reduce the spead to about three revolutions a minute. This slow motion is then transmitted

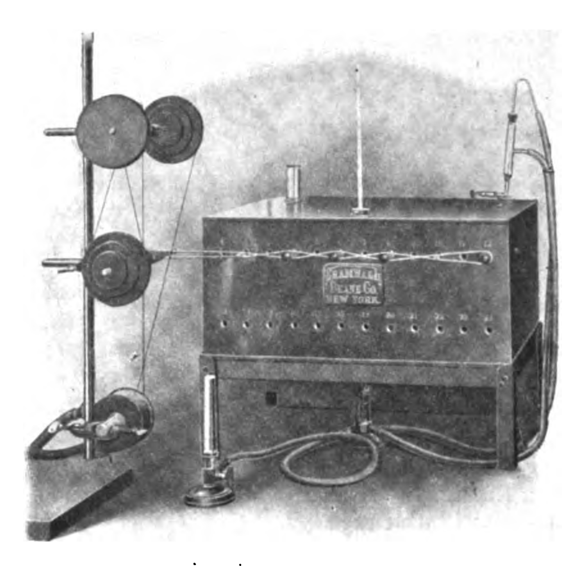


Fig. 4.

to the opsonizing pipettes by means of a string, as shown in the picture. The average phagocytic count obtained in tubes thus rotated does not differ greatly from the count obtained in control tubes not rotated, but the count is rather more uniform.

A pipette holder.

This is designed especially for controlling Wright's opsonizing pipettes, but may be used on other pipettes of small capacity. The rubber nipples are satisfactory when one is sitting quietly at work with no one to disturb, but when one is demonstrating the technique to others it is very convenient to be able to stop at any point and show just what you have done. If one is holding a rubber nipple one must keep some attention on it, or the material is liable to be blown out or drawn too far in through involuntary muscular contraction or relaxation. With this

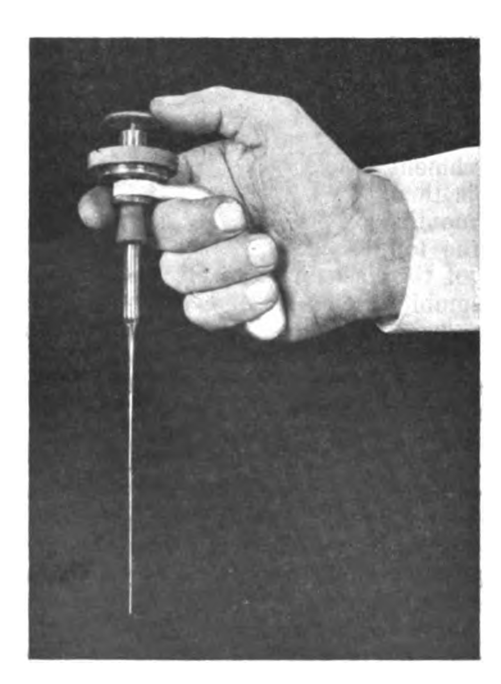


Fig. 5.

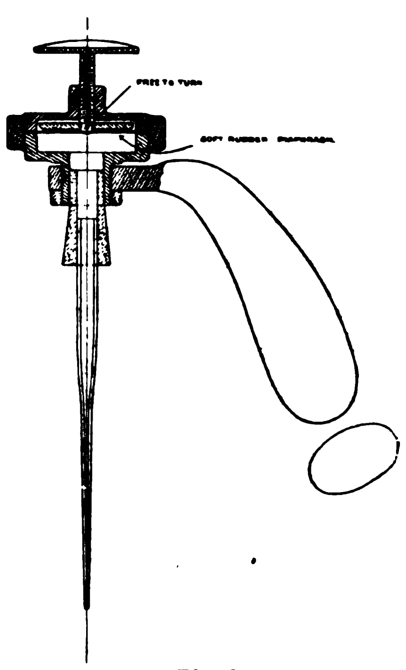


Fig. 6.

pipette (see fig. 5) the material will stay where it is without further attention.

The rubber nipple is satisfactory only when one takes the blood corpuscles first. For taking up exact quantities of water or serum the nipple is unsatisfactory, because ones muscular control is not sufficiently delicate. To overcome this Wright has devised his throttled pipette which gives a delicate control, but which consumes considerable time in making and adjusting, especially if many are to be used. The construction of this pipette holder is very clearly shown in the accompanying line drawing (see fig. 6). The glass pipette is connected to the holder by means of a rubber stopper, making an air tight connection. By turning the screw on the top to the right, the soft rubber diaphragm is lowered and liquids expelled from the pipette; by turning to the left, the elastic diaphragm rises and liquids are drawn in. The aluminum handle gives one a firm grasp with the fingers, while the thumb is left free to move the screw.

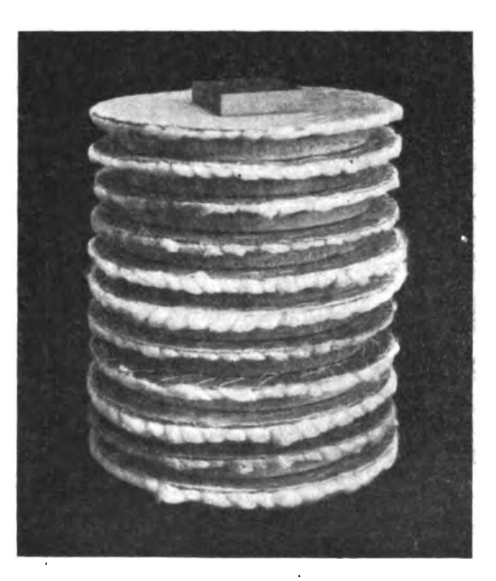


Fig. 7.

Plates for growing germs in quantities.

It is sometimes necessary to grow germs in quantities in order to carry out certain chemical or other investigations. For this purpose the plates shown in figs. 7 and 8 have proved very satisfactory. Each unit consists of a pan and a cover. Fig. 7 shows a stack of these units. The pans are known as jelly cake pans, are 10 inches in diameter, 1 inch deep and are enameled. The cover, as shown by line drawing (fig. 8), consists of a round piece of wire screen of $^1/_8$ the mesh, bound about the edge with tin. Over the wire mesh is laid a layer of cotton and over this a disc of thick paper about the weight of postal card paper (150 lb. tag board). Under the wire screen a braid of coil cotton extends around the periphery. All these constituents are securely sewed together with an ordinary thread and needle. These plates are sterilized by dry heat in the usual way, then a

Fig. 8.

cover is lifted and sufficient melted agar poured in to flood the bottom nicely. The cover is then replaced and the agar allowed to cool. Any water which may condense on the cover is immediately absorbed into the cotton, from which it soon evaporates. When the agar is cool the cover is again raised and the seed material flowed over the surface to make the plant. By stacking these plates one on the other, a considerable surface of agar can be secured in a small space. The eleven plates shown in fig. 7 have a total agar surface of more than one-half square meter, though the stack measures but 11 inches in diameter and 13 inches high. If not unnecessarily scorched in sterilizing, these covers can be used over again several times.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XLVI enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Berichtigung.

Heft 7, p. 584, Zeile 6 von oben steht fälschlich „18—13 g“; es muß heißen „8—13 g“.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3306

